

الجمهورية العربية السورية
اللاذقية
جامعة تشرين
كلية الطب

الانتشار و الواصمات المناعية الذاتية و الوراثية للداء السكري المناعي الذاتي المتأخر عند البالغين LADA في منطقة الساحل السوري

رسالة مقدمة لنيل شهادة الدكتوراه في الكيمياء الحيوية الطبية
بالتعاون مع الهيئة العامة للتقانة الحيوية بدمشق

إعداد الدكتور أيمن أحمد الفروي

بإشراف

أ. م. الدكتورمحمد عماد خياط
قسم الطب المخبري
كلية الطب جامعة تشرين

و مشاركة

الأستاذ الدكتور منيف مرعي
قسم الطب الداخلي
كلية الطب جامعة تشرين

الدكتور إسماعيل أرشوكية
الهيئة العامة للتقانة الحيوية
وزارة التعليم العالي

عضو لجنة الحكم

الأستاذ الدكتور المحترم

الفهرس

الدراسة النظرية

أ-مقدمة

في الممارسة السريرية ،على الرغم من تصنيف الداء السكري عالمياً إلى نمط ١ (مناعي ذاتي غالباً) و نمط ٢ (مقاوم للأنسولين)، قام Irvine و معاونوه في عام ١٩٧٧ (١) باكتشاف مجموعة من مرضى السكري نمط ٢ الذين أظهروا فشلاً علاجياً على خافضات السكر الفموية مع إيجابية لأضداد الخلية الجزيرية الذاتية (ICA). تم لاحقاً الإعلان عن نمط جديد من السكري دعي بالسكري بطيء الترقي المعتمد على الأنسولين (٢) أو السكري نمط ½ (٣) أو السكري نمط ١ الخافِي (٤) غير أنه و بعد اكتشاف أضداد إنزيم نازعة كربوكسيل حمض الغلوتاميك (أضداد GAD) في عام ١٩٩٠ (٥) أطلقت تسمية السكري المناعي الذاتي الخافِي عند البالغين (LADA) (٦) على هذا المرض و استخدمت هذه التسمية بشكل شائع في أغلب المقالات و المؤلفات على الرغم من وجود تسميات أخرى عديدة لهذا النمط (جدول١). يصنف حالياً السكري المناعي الذاتي الخافِي عند البالغين كسكري نمط ١ بطيء الترقِّي بدلاً من سريع الترقِّي (٧-١٠) و يحدث غالباً من عمر ٣٥ سنة و ما فوق (١٠-١٨) عند مرضى ليسوا بحاجة للأنسولين خلال فترة ٦ أشهر الأولى من إصابتهم بالسكري (١٠-١١، ١٧، ١٩-٢٠).

على الرغم من مشاركته لبعض الملامح السريرية والمناعية والوراثية مع النمط ١ (٨، ١٠، ١٣، ٢١-٢٢) يبقى تحديد هوية LADA أمراً مثيراً للجدل القائم حتى الآن لعدم وجود المظاهر السريرية القياسية (١٧، ١٩، ٢٣-٢٦) من حيث تصنيفه الخاطئ كسكري نمط ٢ (٨، ١١-١٣، ١٨) و إظهاره لمعايير مختلفة عن السكري نمط ١ الكلاسيكي أحياناً (١٢، ٢٧). لذلك مازالت الصورة السريرية غير واضحة حتى الآن (١٧، ١٩، ٢٣-٢٥) من حيث تصنيف LADA بالاعتماد على المعطيات السريرية (٨، ١١-١٤، ١٦-١٧) أو حاجة المريض للأنسولين (٢٨). استخدمت العديد من الدراسات معايير مختلفة وخاصة فيما يتعلق بعمر حدوث المرض ومدة الفترة الخالية من الأنسولين (١١، ١٩، ٢٩). لذلك وبناءً على الدراسات السابقة لقد حضت التوصيات على توحيد معايير البحث العلمي لهذا المرض من حيث عمر الحدوث وعدم إعطاء الأنسولين خلال ستة الأشهر الأولى من اكتشاف المرض و الترقي البطيء لتحطم الخلية β وذلك لاستبعاد السكري نمط ١ الكلاسيكي.

من الناحية المناعية، ركزت كافة الدراسات المجراة على تشخيص المرض بناءً على الايجابية على الأقل لواحد من الأضداد الذاتية الجائلة في الدم ضد مستضدات خلايا β البنكرياسية و بالخصوص أضداد GAD أو أضداد ICA (٦، ٨-٩، ١١، ١٤-١٦، ١٨، ٢٧، ٣٠-٣٢) و بدرجة أقل أضداد بروتين التيروزين فسفاتاز (أضداد IA2) (١٠-١١، ١٤، ١٨، ٢٧، ٣٣) ونادراً أضداد الأنسولين (أضداد IA) (٣٣).

تم تأكيد أهمية أضداد GAD كواصم مناعي ذاتي حساس مشخص لـــ LADA من قبل (٦، ٨، ١١، ١٥، ١٨، ٣٢، ٣٤-٣٧) و اعتمدت أغلب الدراسات الوبائية العالمية على ايجابية أضداد GAD و تراوحت نسبة انتشار المرض من ٢.٨% وحتى ١٦% عند مرضى السكري نمط ٢ (٨، ١١، ١٥، ١٨، ٣٤، ٣٨). إضافة لذلك لعبت أضداد GAD دوراً في تقسيم مرضى LADA إلى تحت مجموعتين فرعيتين من المرضى (١٤، ٣٥، ٣٨) بالتزامن مع العوز النسبي أو المطلق للأنسولين (٨، ١٠-١١، ١٤-١٥، ١٨، ٣٧-٣٨) و تم تأكيد أن إعطاء الأنسولين في المراحل الباكرة من المرض له تأثير محصن على الخلية β البنكرياسية من حيث تأخير تحطمها (٨، ٣٦-٣٧، ٣٩). اعتمد تقييم الوظيفة الإفرازية الداخلية للأنسولين عن طريق الخلية β البنكرياسية على معايرة الببتيد-c (٧، ٣٢، ٤٠-٤١) و لوحظ انخفاضه بشكل بطيء عند مرضى LADA بالمقارنة مع مرضى السكري نمط ١ (١٠، ٣١، ٤١).

يمتلك أغلب المرضى المصابون بـــ LADA مورثات نظام HLA والتغيرات المناعية المشاهدة في النمط السكري ١ نفسها. خلصت بعض الدراسات إلى أن الأنماط الوراثية HLA-DQB1 0302* و 0201* اقل انتشاراً عند مرضى السكري نمط ١ عند البالغين مما هو عليه عند الأطفال (٤٢-٤٤) بينما أظهرت دراسات أخرى زيادة انتشار ألائل الاستعداد DQB1 0302* و 0201* عند مرضى LADA و السكري نمط ١ عند البالغين بالمقارنة مع عينة الشاهد أو مرضى نمط ٢ (١٠-١١، ١٣، ٢١-٢٢، ٣٥، ٤٥-٤٧). من جهة أخرى لوحظ ارتفاع تواتر الأنماط الوراثية DQB1 0602* المحصّنة مع ازدياد عمر حدوث الإصابة بـــ LADA (١١، ٤٤-٤٥، ٤٧).

الجدول (١) تسميات LADA بالاعتماد على أول مرجع أطلق هذا المصطلح

العام	التسمية
1984	Slowly progressive IDDM (SPIDDM) (2)
1985	Type 1.5 diabetes/ Type 1/2 diabetes (3)
1986	Latent type 1 diabetes (4)
1992	Progressive insulin-dependent diabetes mellitus (PIDDM) (48)
1993	Latent autoimmune diabetes in adults LADA (6)
1996	Autoimmune diabetes in adults (ADA) (49)
1997	Slow-onset IDDM (50)
1998	Slowly progressive type 1 diabetes (34)
1999	Latent-onset type 1 diabetes (51)
1999	Antibody-positive non-insulin-dependent diabetes (51)
1999	Slowly progressing autoimmune type 1 diabetes (12)
1999	Type 2 diabetes with GAD antibodies (11)
1999	Slow type 1 diabetes (29)
2000	Slow onset autoimmune diabetes (52)
2000	Slowly progressing autoimmune diabetes (52)
2001	Autoimmune diabetes not requiring insulin at diagnosis(13)
2001	LADA–type 1 and –type 2 (14, 38)
2001	Slowly progressive β-cell failure (40)
2001	Slowly progressive autoimmune diabetes in adult patients (53)
2003	Antibody-positive phenotypic type 2 diabetes with obesity (54)
2003	Slowly progressive adult-onset type 1 diabetes (10)
2003	Latent autoimmune diabetes of adulthood (55)
2004	Type 2 with islet cell autoimmunity (16)
2004	Adult-onset latent autoimmune diabetes (38)
2005	Autoimmune diabetes in adults with slowly progressive b-cell failure (ADASP(17)
2005	Antibody-positive slowly progressive type 1 diabetes (39)
2007	Non insulin requiring autoimmune diabetes (NIRAD) (35)

ب-الداء السكري

يعرف الداء السكري كاضطراب استقلابي متعدد الأسباب ، يتميز بفرط سكر الدم على الريق نتيجة الآليات المُمْرِضة المتضمنة على التَخَرُّب المناعِي الذَاتِي للخلية– β البنكرياسية المترافق مع عوز للأنسولين أو الشُذُوذات الناتجة عن المقاومة لعمل لأنسولين أو كلا الأمرين. يشكل عوز عمل الأنسولين على الأنسجة المستهدفة أساس الشذوذات الإستقلابية لكل من السُكَّرِيَّات و الشحوم و البروتينات حيث يؤدي عوز الأنسولين للاستجابة النسيجية الناقصة في نقطة أو عدة نقاط من السبل المعقدة المعتمدة على عمل الهرمون. كذلك قد يترافق النقص في إفراز الأنسولين و الخلل في عمله معاَ و في مثل هذه الحالة لا يعرف أيَ من الشذوذين هو السبب الرئيسي وراء فرط سكر الدم.
يشكل البوال و العُطاش ونقص الوزن و أحياناً النُهَام و تَغَيُّمُ الرُّؤْيَة الأعراض الوصفية للمرض و يمكن أن يترافق إِخْتِلال النمو و الاستعداد لبعض الأمراض المعدية مع فَرْط سُكَّر الدَّم المزمن. قد يتظاهر السكري في أشكاله الحادة بالحُماض الكيتونِي أو مُتَلاَزِمَة فَرْطِ الأُسْمولِيَّة اللاَّكيتونِي وقد يكون في مراحله المبكرة لا عرضياً أحيانا و لا يكشف إلا بفحص دوري للسكر بالدم.
تؤدي مسيرة المرض المزمنة و الطويلة لمضاعفات وعقابيل في وظائف الأجهزة والأعضاء المختلفة في الجسم و خصوصاً العينين و الكلى و الأعصاب و القلب و الأوعية الدموية. تشتمل المضاعفات المَديدَة للسكري على اعْتِلاَل الشَّبَكِيَّة مع خسارة الرؤية الكامِن و اعْتِلاَل الكُلْيَة المؤدي للفَشَل الكلوي و اعْتِلاَل الأَعْصَاب مع خطورة الترقي لقرحة القَدَم أو بتر القدم أو مَفْصِلُ شاركو (اعْتِلاَل مَفْصِلِي عَصَبِي المنشأ) و اعْتِلاَل عَصَبِي مُسْتَقِلِّي مسبب لأعراض مَعِدِيّة مِعَوِيّة أو تَناسُلِيٌّة بَولِيّة أو قَلْبِيٌّة وِعائِيّة أو خَلَلٌ وَظيفِيّ جنسي. كذلك لوحظ وجود ميل عند مرضى السكري لحدوث الأمراض التَصَلُّبِية العَصيدِيّة القَلْبِيٌّة الوِعائِيّة و الشريانية المحيطية و الدِمَاغِيٌّة الوِعَائِيّة بالإضافة لحدوث فَرْطُ الضَّغْطِ و شُذُوذات في إستقلاب البروتينٌات الشَحْمِيّة.
تقع معظم إصابات السكري على الأغلب ضمن فئتين إمراضيتين السكري لنمط ١ وهو النمط الأكثر شيوعاً لدى الأطفال والشباب و يشكل ٥–١٥% والسكري نمط ٢ و يشكل أكثر من ٩٠% من حالات الداء السكري ويظهر عند الأشخاص البالغين عادة فوق سن الـــ ٣٠ سنة و لكنه بات اليوم يشاهد عند الأطفال أيضاً بسبب زيادة السمنة. يصنف السكري (جدول ٢) وفقاً لمعطيات الصحة العالمية (٥٦) و الجمعية الأمريكية للسكري (٥٧) إلى أربعة أصناف سريرية على الشكل التالي:

١-السكري نمط ١:

حل مصطلح السكري نمط 1 محل المصطلحات السابقة مثل سكري الأطفال أو السكري المعتمد على الأنسولين. عادة ينتج المرض عن تحطم الخلايا –β البنكرياسية مؤدياً إلى عوز مطلق بالأنسولين وله

آلية مناعية ذاتية مخربة للخلايا -β أو آلية مجهولة السبب . يعالج المرض بحقن الأنسولين لتعويض النقص الناتج عن توقف إفراز الأنسولين.

١-١-**السكري نمط ١ المناعي الذاتي** (**نمط** 1a):

في السكري نمط ١ المناعي الذاتي غالباً يوجد واحد أو أكثر من الأضداد في ٨٥-٩٠% من المرضى عند كشف فرط سكر الدم لديهم (٥٨). كذلك يترافق المرض مع أنماط وراثية HLA مؤهبة مرتبطة بمورثات DQA و DQB و DRB. يكون ترقي هذا النمط المرتبط بمعدل تحطم الخلايا – β البنكرياسية سريعاً خاصة عند الأطفال و لدرجة قليلة عند البالغين أو بطيئاً بشكل رئيسي عند البالغين (٦، ٥٩) يتظاهر الحماض الكيتوني عند بعض المرضى وبخاصة الأطفال واليافعين كعرض أولي للمرض. يمكن أن تبقى بقية كافية من الخلايا- β تقي من الحماض الكيتوني لعدة أعوام عند بعض المرضى وخاصة البالغين. في المراحل المتقدمة من المرض ينعدم إفراز الأنسولين و يكشف بانخفاض أو انعدام مستويات الببتيد–c البلازمي. يحدث المرض عادة عند الأطفال واليافعين ولكنه قد يحدث بأي عمر حتى في العقد الثامن أو التاسع من العمر. نادراً ما يكون مرضى السكري نمط ١ سماناً ولكن يجب عدم نفي الإصابة بهذا النمط عندهم. كمرض مناعي ذاتي يمكن للسكري نمط ١ أن يترافق مع اضطرابات مناعية ذاتية أخرى مثل داء غريفز (الدراق الجحوظي) أو التهاب الدرقية المنسوب لهاشيموتو أو داء أديسون (القصور الكظري الأولي) أو البهاق أو الذرب البطني أو التهاب الكبد المناعي الذاتي أو الوهن العضلي الوبيل أو فقر الدم الوبيل.

١-٢-**السكري نمط ١ مجهول السبب** (**نمط** 1b):

يحدث السكري نمط ١ مجهول السبب_ عند نسبة قليلة من المرضى الذين يظهرون نقص أنسولين دائماً بدون آلية مناعية ذاتية واضحة ويميلون إلى حدوث الحماض الكيتوني. معظم المصابين بهذا النوع هم أفارقة أو آسيويين و يعاني معظمهم من حماض كيتوني نوائبي ويعرضون درجات مختلفة من عوز الأنسولين بين النوبات. يعتبر هذا النوع موروثاً ويفتقر إلى الدليل المناعي الذاتي لتحطم الخلية β البنكرياسية ولا يترافق مع أنماط HLA الوراثية المؤهبة و يعتبر الأنسولين هنا حاجة ملحة لبقاء المرضى .

٢-السكري نمط ٢:

حل مصطلح النمط الثاني محل مصطلحات أخرى مثل سكري البالغين أو السكري المرتبط بالسمنة أو السكري غير المعتمد على الأنسولين حيث يعجز الأشخاص المصابين بهذا النمط عن الاستخدام الفعال للأنسولين رغم توفره وذلك نتيجة المقاومة لفعله و الاستجابة الإفرازية غير المعاوضة و غير الكافية للأنسولين. في بعض الحالات قد يكفي تعديل نمط الحياة لضبط المرض (التنظيم الغذائي وإنقاص الوزن وممارسة النشاط الفيزيائي)، لكن في باقي الحالات يحتاج المرضى إلى استخدام الأدوية الفموية وربما إلى حقن الأنسولين في مرحلة متقدمة للسيطرة على المرض.

تتراوح الآلية المرضية للسكري نمط ٢ بشكل رئيسي من المقاومة للأنسولين إلى عوز الأنسولين النسبي بسبب العيب الإفرازي للأنسولين مع المقاومة للأنسولين. في هذا النمط تلعب السمنة دوراً رئيسياً في المقاومة للأنسولين على الأغلب و يمتلك المرضى عادة توزع للمادة الدهنية في منطقة البطن بشكل رئيسي. نادراً ما يحدث الحماض الكيتوني في سكري نمط ٢ وعند حدوثه يكون نتيجة لمرض معدِ أو حالة شدة مرافقة. غالباً يبقى السكري نمط ٢ غير مشخص لعدة سنوات بسبب تطور فرط سكر الدم بشكل تدريجي ويكون بمراحله المبكرة بدون خطورة و غير عرضي. يطور عادة المصابون بهذا النمط مضاعفات وعائية وقلبية. على الرغم من وجود مستويات أنسولين طبيعية أو مرتفعة نتيجة الآلية المقاومة للأنسولين (ببتيد–c طبيعي أو مرتفع) ينشأ فرط سكر الدم نتيجة عدم كفاية الأنسولين المفرز لتعويض المقاومة له. تزداد خطورة الإصابة بالنمط ٢ مع تقدم العمر والسمنة وعدم ممارسة النشاط الرياضي. عائلياً هناك تأهب وراثي أكثر من ذلك المشاهد عند السكري نمط ١ ولكن بدون وجود أنماط HLA وراثية مؤهبة مرافقة وحتى الآن تعتبر الآلية لهذا النمط معقدة وغير محددة بشكل كافي.

٣- أنماط نوعية أخرى من السكري:

تحدث نتيجة أسباب متنوعة مثل العيوب الوراثية في عمل الأنسولين وأمراض البنكرياس خارجية الإفراز مثل التليف الكيسي أو الأدوية أو المواد الكيميائية المحرضة للسكري (مثل الأدوية المعالجة للإيدز أو بعد زرع الأعضاء) أو بعض الاعْتِلاَلات الصَمَّاوِيّة (مثل متلازمة كوشينغ، ضخامات النهايات).

٤- السكري الحملي (GDM):

يشخص أثناء الحمل و يمكن أن يكون إما نمط ١ أو نمط ٢ و لكن في بعض المريضات لا يمكن تصنيفه بشكل واضح ضمن النمط ١ أو النمط ٢.

جدول (٢) التصنيف السبباتي للسكري (٥٦-٥٧)

السكري نمط ١	١- مناعي ذاتي (نمط 1a) ٢- مجهول السبب (نمط 1b) نادر في أوربا مع سلبية الأضداد الذاتية.
السكري نمط ٢	١- بدون سمنة=٢٠ % ٢- مع سمنة = ٨٠ %
أنماط أخرى للسكري	*العيوب الوراثية في وظيفة الخلية β مثل MODY و الـــ DNA المتقدري *العيوب الوراثية في وظيفة الأنسولين: النمط A المقاوم للأنسولين، مَرَض الجِنّ (مُتَلازِمَة دونهيوLeprechaunism)، متلازمة Rabson-Mendenhall، السُكَّرِي المُضَمِّر للشَّحْم * أمراض البنكرياس الخارجية الإفراز: الْتِهابُ البَنكرِياس، الرُضوح، اسْتِئْصال البَنكرِياس، تَكَوُّنُ الوَرَم، التليف الكيسي، دَاءُ تَرَسُّب الأَصْبِغَة الدَّمَوِيَّة، اعْتِلَال البَنكرِيَاس اللِيفِي المُتَكَلِّس *الاعْتِلَالات الصَمَّاوِيّة: متلازمة كوشينغ، ضخامات النهايات، ورم القواتم، وَرَمٌ غلُوكاغُونِي ، وَرَم سوماتوستاتيني. فَرْطُ الدَّرَقِيَّة، وَرَم أَلْدُوستيرُونِي *المحرضات الدوائية والكيميائية: فاكورVacor ، ستيروئيدات، انترفرون ألفا، ديازوكسيد، حمض النيكوتينيك، بنتاميدين، فينيتوئين، تيازيد، مناَهِض أدْرينِيّ β، هرمونات الدرقية، دِّيلانتين *الأمراض المعدية: الحَصْبَة الأَلْمانِيَّة الخلقية، الفَيروس المُضَخِّم للخَلاَيا * أشكال غير شائعة من السكري المناعي الذاتي: أضداد مستقبلات الأنسولين و مُتَلاَزِمَة الرَّجُل المُتَيَبِّس النادرة * بعض المتلازمات الوراثية التي تترافق مع السكري أحياناَ : أ- طفرة وراثية: رَنَح فريدريتش، رَقَص هنتينغتون، متلازمة للورانس مون بيدل، حَثَلُ التَّأَتُّر العَضَلِي، البُرْفيرِيَّة، متلازمة برادار ويلي، متلازمة ولفرام Wolfram ب- الشذوذات الصبغية: متلازمة داون، متلازمة كلاينفيلتر، متلازمة ترنر
الحملي GDM	يمكن أن يكون أياَ من النمطين و يمكن أن يحتاج للأنسولين للمعالجة

ج-الداء السكري المناعي الذاتي الخافي عند البالغين LADA

بصفة عامة، يعرف LADA بالتظاهر الأولي كسكري نمط ٢ ولكن مع دليل على المناعة الذاتية ضد الخلايا الجزيرية و يعتبر كنمط سكري ١ بطيء الترقِّي بدلاً من سريع الترقِّي مع حدوث في البالغية adulthood بعمر أكثر من ٣٥ سنة و عند مرضى ليسوا بحاجة للأنسولين خلال فترة ٦ أشهر الأولى من إصابتهم بالسكري. يرتبط الترقي التدريجي لتخرب وظيفة الخلية β للحاجة المستقبلية للانسولين في بعض المجتمعات (٤، ٨، ٥٩) و يعتبر التحول على الأنسولين خلال ٣-٦ سنوات من بدء تشخيص المرض ضرورياً للحفاظ على وظيفة الخلية β و للحصول على ضبط سكر جيد (٨).

بشكل عام يبقى المعيار الرئيسي لتشخيص المرض هو الايجابية على الأقل لواحد من الأضداد الذاتية الجائلة في الدم ضد مستضدات خلايا β البنكرياسية (١٤) و بالخصوص أضداد GAD أو أضداد ICA أولدرجة قليلة أضداد IA2 أو نادرا أضداد IA. وراثياً يعرض المرضى المصابون بـــ LADA غالبا مورثات نظام HLA (مستضدات التوافق النسيجي) المشاهدة في النمط السكري ١ نفسها (١٠ ،٤٥).

يشير التخريب البطيء للخلايا β البنكرياسية عند مرضى LADA الذي يحدث لعدة أشهر أو سنوات قبل أن يتم تشخيصه على أن الأعراض مثل تعدد البيلات و السهاف هي أعراض خافية كما في مرضى النمط ٢ . كذلك الأمر يظهر مرضى LADA بعض التظاهرات السريرية المشابهة للنمط ١ الكلاسيكي (١٢، ٣٩) مثل انخفاض الوزن (منسب كتلة الجسم) و معدل الخصر على الوركين و مستوى شحوم الدم و ارتفاع ضغط الدم و في مراحل متقدمة الحماض الكيتوني. يجب أن يثير حدوث الأعراض الحادة و خاصة عند الأشخاص البالغين غير السمان الشك نحو الإصابة بـــ LADA أو السكري نمط ١ عند البالغين بدلا من السكري نمط ٢.

من ناحية الفئات العمرية رغم حصر LADA بالبالِغيَّة (> ٣٥ سنة) قدم Lohmann و رفاقه حديثاً مصطلح LADY-like (السكري المناعي الذاتي الخافي عند الفتيان) بالاعتماد على طفلين شخصوا مع أضداد جزيرية بدون الاعتماد على الأنسولين و الذين اظهروا لاحقاً فشل خلية β بطيء الترقي (٦٠). كذلك الأمر وجدت نفس الملاحظة في حالة مرضية مشابهة في تركيا (٦١) و أعطيت مصطلح LADC (السكري المناعي الذاتي الخافي عند الأطفال).

يترافق عادة السكري نمط ٢ مع منسب كتلة الجسم BMI مفرط الوزن، بينما يرتبط LADA مع وزن طبيعي (١٣). أحياناً من الصعب تمييز LADA عن السكري نمط ٢ على أساس منسب كتلة الجسم و تبقى السمنة مشعراً لا يستبعد الإصابة بـــ LADA. لاحظت العديد من الدراسات حدوث

LADA عند الأشخاص مع منسب كتلة جسم في فئة مفرطي الوزن (٢٥–٣٠ كغ/م٢) أو السمان (<٣٠ كغ/م٢) (١٥) و الذي تم عزوه لزيادة تواتر السمنة بين البالغين عالمياً (٦٢).
بشكل عام أوضح Palmer تنوع النمط الظاهري للمرضى الايجابيي الأضداد الذاتية (٥٤) بينما اقترح Lindholm و آخرون أنه يمكن فصل السكري نمط ١ عن السكري نمط ٢ في LADA (٦٣). حتى الآن لوحظت معلومات محدودة متعلقة بخصائص النمط الظاهري عند مرضى السكري نمط ٢ المشخصين حديثاً و ايجابيي الأضداد الذاتية (٨) بالمقارنة مع غالبية المرضى الذين يعانون من السكري نمط ٢ و لديهم سلبية للأضداد الذاتية (١١). يوضح الجدول ٣ الفروقات السريرية و المخبرية بين السكري نمط ٢ و نمط ١ و LADA.
من ناحية أخرى هناك القليل من المعلومات حول مضاعفات السكري المزمنة عند مرضى LADA. تشتمل المضاعفات السكرية لـــ LADA على اعْتِلَال الأَعْصَاب السكري و اعتلال الشبكية السكري و العمى و عداوى الجروح المزمنة و البتر و القصور الكلوي و المضاعفات القلبية الوعائية و المشاكل الجنسية و البولية و الكتف المتيبس و مشاكل أخرى أثناء الحمل مع ارتفاع حدوث الحماض الكيتوني بشكل مشابه للنمط ١ و لكن لدرجة قليلة و فقط في المراحل المتقدمة من المرض.
توجد المضاعفات الوعائية الدَّقيقَة للسكري نمط ١ و السكري نمط ٢ (جدول ٣) أيضاً عند مرضى LADA (١٢). يعتقد أن المضاعفات الوعائية الدَّقيقَة في كل أشكال السكري متعلقة بدرجة فرط سكر الدم ويعتقد أن التشابه في تواتر المضاعفات السكرية بين النمط ٢ و LADA هو نتيجة ضبط السكر المشابهة بين الشكلين (١٢). لوحظ تواتر اعتلال الشبكية واعتلال الكلية عند مرضى LADA بشكل مشابه لذلك المشاهد عند مرضى النمط ٢ بينما لوحظت زيادة الاعتلال العصبي مع تقدم فترة المرض. لوحظ تواتر ٥١% لاعتلال الشبكية و٢٧% لاعتلال الكلية و ٢٩% لاعتلال الأعصاب عند مرضى LADA بالمقارنة مع ٧٦% اعتلال شبكية و ١٣% لاعتلال الأعصاب السكري عند مرضى السكري نمط ١ (١٢) . يعتقد أن انخفاض تواتر اعتلال الشبكية في مرضى LADA والسكري نمط ٢ بالمقارنة مع السكري نمط ١ قد يكون نتيجة حدوث المرض في الأعمار المتقدمة أو نتيجة المحافظة الأطول على وظيفة الخلية β البنكرياسية (٦٤).
تبدو المضاعفات الوعائية الكبروية متشابهة عند مرضى السكري نمط٢ ومرضى LADA المصابين لفترة مديدة ولكن بدرجة أقل عند مرضى السكري نمط١ مع فترة إصابة متشابهة مع LADA (١٢). بدراسة ترافق فرط ضغط الدم وفرط شحوم الدم والسمنة وفرط سكر الدم بشكل مستقل مع الأمراض الوعائية الكبروية عند مرضى السكري بدا أن فرط الضغط وفرط شحوم الدم والسمنة أقل شيوعاً عند مرضى LADA مما هو عليه عند مرضى السكري نمط٢ (١٢) رغم تشابه معدلات المضاعفات الوعائية الكبروية عند الشكلين و الذي تم ربطه عند مرضى LADA بالآلية الإمراضية الأوسع أو

بتدبير المرض غير المثالي من حيث المعالجة بالأنسولين أو التردد في نقل المريض من خافضات السكر الفموية للأنسولين (٦٥).

جدول (٣) الفروق السريرية و المخبرية بين السكري نمط ١ و LADA و النمط ٢

	نمط ١	LADA	نمط ٢
الترقي	سريع (أيام أو أسابيع)	بطيء (سنوات)	بطيالقُعَدَة) والسمنة)
العمر	الأعمار المبكرة	البالغية غالبا > ٣٥ سنة	البالغية غالبا > ٤٠ سنة
منسب كتلة الجسم	منخفض	منخفض	مرتفع
التظاهرات السريرية	تظهر أعراض ارتفاع السكر بشكل أسرع بما فيها الأعراض الحادة كالبيلة الكيتونية وحتى الحماض الكيتوني	يعتبر التفريق عن السكري نمط ٢ بناءً على الموجودات السريرية صعباً يلاحظ غياب للسكري نمط ٢ في القصة العائلية	سيرة طويلة لأعراض ارتفاع السكر وغياب البيلة الكيتونية و حدوث اكبر للاضطرابات الإستقلابية الأخرى المؤدية إلى ارتفاع الخطورة للإصابة بمرض قلبي وعائي
الأضداد الذاتية	متعددة	غالبا من نوع واحد (GAD)	نادرة
الآلية المرضية	التحطم الكامل في الخلايا-β البنكرياسية بآلية مناعية ذاتية. يشخص المرض عادة عندما يكون هناك تخرب في ٨٠-٩٠% من خلايا-β	تحطم جزئي للخلايا β البنكرياسية بآلية مناعية ذاتية. يؤدي لعوز نسبي في إفراز الأنسولين قد يتحول لاحقا لعوز كامل	بسبب الآلية المقاومة للأنسولين بالإضافة للعوز النسبي في الأنسولين نتيجة العيب الإفرازي المتزامن مع المقاومة للأنسولين
المورثات والعوامل المحرضة	وجود عوامل استعداد وراثية و عوامل بيئة محرضة للمرض (غالباً فيروسية)	وجود عوامل استعداد وراثية للمرض وأخرى بيئية مثل النمط ١ ولكن تبقى آلية الترقي البطيء غير مكتشفة حتى الآن.	توجد آلية وراثية معقدة. يشكل نمط الحياة الذي يخلو من النشاط (القُعَدَة) والسمنة (خاصة السمنة المركزية عند البطن و محيط الخصر) أغلب العوامل المحرضة للمرض.
الحاجة للأنسولين	حاجة ملحة	على الأقل بعد ٦ سنوات من حدوث المرض	لا حاجة إلا بعد استنفاذ المعالجة بخافضات السكر الفموية
غلوكوز الدم	عالي	عالي بشكل معتدل	عالي بشكل معتدل
ببتيد – c	منخفض	منخفض أو طبيعي	مرتفع أو طبيعي
أضداد ICA	توجد في ٨٠%	إيجابية	سلبية
أضداد IA	غالبا موجودة	موجودة أحياناً	سلبية
أضداد IA٢	٥٠- ٧٠%	موجودة أحياناً	سلبية
أضداد GAD	أكثر شيوعا عند البالغين	موجودة	نادرة < ١%
HLA	وجود أنماط الاستعداد	وجود أنماط الاستعداد بشكل أقل من السكري نمط ١	لا توجد أنماط الاستعداد ولكن أوضحت بعض الدراسات وجود أنماط وراثية محصّنة و لكن بدرجة أقل من الأصحاء

د-الملامح الإستقلابية للداء السكري المناعي الذاتي الخافي عند البالغين

استقلابياً هناك كمية متسلسلة من التبدلات الإستقلابية من انخفاض الفعالية الإفرازية للأنسولين أساساً ولدرجة اقل انخفاض الحساسية للأنسولين عند مرضى السكري المناعي الذاتي. يمتد ذلك من التبدلات الخطيرة المشاهدة في السكري نمط١ طفولي الحدوث إلى تبدلات خفيفة نسبيا مشاهدة بشكل أساسي عند مرض LADA . يمر بعض الأشخاص عبر المرحلة قبل السكرية بتحمل سكر عليل قبل أن يصبح السكري صريحاً محتاجاً للأنسولين. يعتبر معدل الترقي إلى السكري السريري أكثر سرعة عند المرضى المصابين بأعمار أصغر من خمس سنوات بالمقارنة مع المرضى مع اعمار أكبر(٦٦). نسيجياً تميل خلايا β الجزيرية للغياب خلال ١٢ شهراً من التشخيص في المرضى المشخصين قبل سبع سنوات ولكن تأخذ فترات أطول عند المرضى في أعمار أكبر (٦٧). يمكن كشف التبدل في الترقي لسكري صريح أيضا في الأطفال الصغار بأعمار من ١-٥ سنوات والمترافقين مع إيجابية للأضداد الذاتية حيث يترقى نصفهم بشكل سريع بينما يبقى نصفهم الآخر بدون إصابة حتى ٤ سنوات لاحقة (٦٨). لاحظت بعض الدراسات الأخرى مثل هذا الاختلاف في الترقي الذي وجد سريعا عند الأطفال السمان أكثر من النحيلين (٦٩) وعند الأطفال أكثر من البالغين (٧٠-٧١). بالمجمل اتساع في معدل انْهِيارُ المُعاوَضَة الإستقلابي خلال الطور ما قبل السكري عند مرضى السكري نمط ١ مناعي ذاتي غير موجودة عند مرضى LADA. تعتبر القدرة الإفرازية للأنسولين قليلة عند الأطفال بالمقارنة مع البالغين عند حدوث السكري نمط١. يمتلك مرضى LADA تراكيز ببتيد-c صيامية أو محرضة منخفضة أثناء تشخيص المرض ولكن أعلى من تلك المشاهدة عند الأطفال ومشابهة لذلك المشاهد عند مرضى السكري نمط ١ عند البالغين (١٠) لكن بعد التشخيص تنخفض مستويات الببتيد-c بسرعة كبيرة عند مرضى السكري نمط ١ الأطفال بالمقارنة مع مرضى السكري نمط١ عند البالغين وفي الأخير أكثر سرعة من ذلك المشاهد عند مرضى LADA (٣١، ٤١). بشكل عام يعكس إفراز الببتيد-c المتواصل ضآلة حجم العملية التخريبية للمرض المشاهدة عند البالغين بالمقارنة مع اليافعين بعد تشخيص السكري نمط١ و عند اليافعين بالمقارنة مع الأطفال المصابين بالسكري سابِق للبُلوغ (٤١).

لاحظ Gottsäter ورفاقه تراوح مستوى إفراز الأنسولين عند مرضى LADA بين السكري نمط ١ و السكري نمط ٢ (٣١) حيث أظهرت هذه الدراسة انخفاض مستوى الببتيد- c الصيامي والمحرض عند مرضى LADA بالمقارنة مع السكري نمط ٢ وعينة الشاهد الطبيعي خلال سنوات قليلة من تشخيص مرضى LADA المعالجين بخافضات السكر الفموية. لاحقا قامت عدة دراسات طولانية بملاحظة انخفاض سريع نسبياً في إفراز الأنسولين في السنوات القليلة الأولى بعد التشخيص (٤٠) حيث تم الكشف عن خسارة ٥٠% من الوظيفة الإفرازية للأنسولين خلال ٣-٤ سنوات و الذي قد لا

يتوافق مع النظرة السائدة بأن خسارة وظيفة الخلية β هي مترقية بشكل بطيء في LADA بالمقارنة مع السكري نمط١.

ه-الآلية الإمراضية للسكري المناعي الذاتي نمط ١ و LADA

١-الآلية الإمراضية للسكري نمط ١:

تعتبر السمة الرئيسية للسكري نمط ١ هي التحطم النوعي للخلايا β البنكرياسية المنتجة للأنسولين. يشكل ظهور الأضداد الذاتية المضادة للخلايا β البنكرياسية عند الأطفال أثناء الولادة الخطر الأكبر وراء ترقي السكري نمط ١. يصف الشكل ١ طرازاً عاماً لتحطم الخلية β البنكرياسية المؤدي للإصابة بالسكري نمط١. يبدو التآثر الأولي بين العوامل الوراثية والبيئية محرضاً للاستجابة الوسيطة المناعية المتزامنة مع ظهور الأضداد الذاتية كعلامة أولية لتحطم الخلية β المتبوعة في آخر الأمر بخسارة استجابة الأنسولين في الطور الأول .

بشكل عام يعتبر السكري نمط ١ مرضاً متواسطاً بالخلية التائية بشكل مؤكد من خلال الدراسات التي أجريت على الإنسان والفئران. يؤكد فحص النسيج البنكرياسي المأخوذ من خزعة بنكرياسية من مريض سكري نمط ١ حديث الإصابة وجود التهاب في الجزر البنكرياسية مع وجود رشيحة مؤلفة من اللمفاويات التائية CD4 و CD8 واللمفاويات البائية والبلاعم والتي تلعب دورا في تحطم الخلايا β البنكرياسية (٧٢). يؤدي الترقي لسكري صريح إلى تحطم الخلية β المعتد المحرض بوساطة تطور نمط ظاهري عدواني للخلية التائية وتبدل في التوازن بين الخلية Th1 و الخلية Th2 باتجاه بيئة ما قبل التهابية. يؤدي تعبير FasLigand على الخلايا التائية السامة إلى تحديد الترقي لسكري صريح. يكشف فحص الجزيرات خلال التهاب الجزر البنكرياسية حدوث موت الخلية المبرمج المتواسط بالـــ Fas المسبب لتحطم محتمل في الخلية β البنكرياسية (٧٣).

أظهرت الدراسات المبكرة عند الفئران أن المعالجة بأضداد CD3 يقي من السكري ومازال استخدام أضداد CD3 البشرية عند مرضى السكري نمط ١ حديث الإصابة قيد البحث (٧٤-٧٥). كذلك تعتبر اللمفاويات البائية هامة في آلية تطوير مرض السكري نمط ١ وسوف تكون نتائج دراسات الأضداد المضادة للخلايا البائية (المضادة لــ CD20) عند مرضى السكري حديث الإصابة متاحة قريباً. في فئران التجربة المعدلة وراثياً NOD خفضت المعالجة بأضداد CD20 ترقي السكري (٧٦). يعتبر عدم حصول مرض السكري في الأطفال الذين يولدون لأمهات ايجابيي الأضداد ، أو النساء اللواتي طوّرن مرض السكري نمط A١ خلال فترة الحمل الدليل الأكثر إقناعاً على عدم وجود ضرر مباشر من قبل الأضداد الذاتية. أظهرت بعض الدراسات الكشف عن الأضداد الذاتية (ICA و

GAD و IA) في المصل الأطفال الرضع من أمهات ايجابيي الأضداد مع عدم وجود إصابة عند الأطفال.

2-**الآلية الإمراضية لـ** LADA:

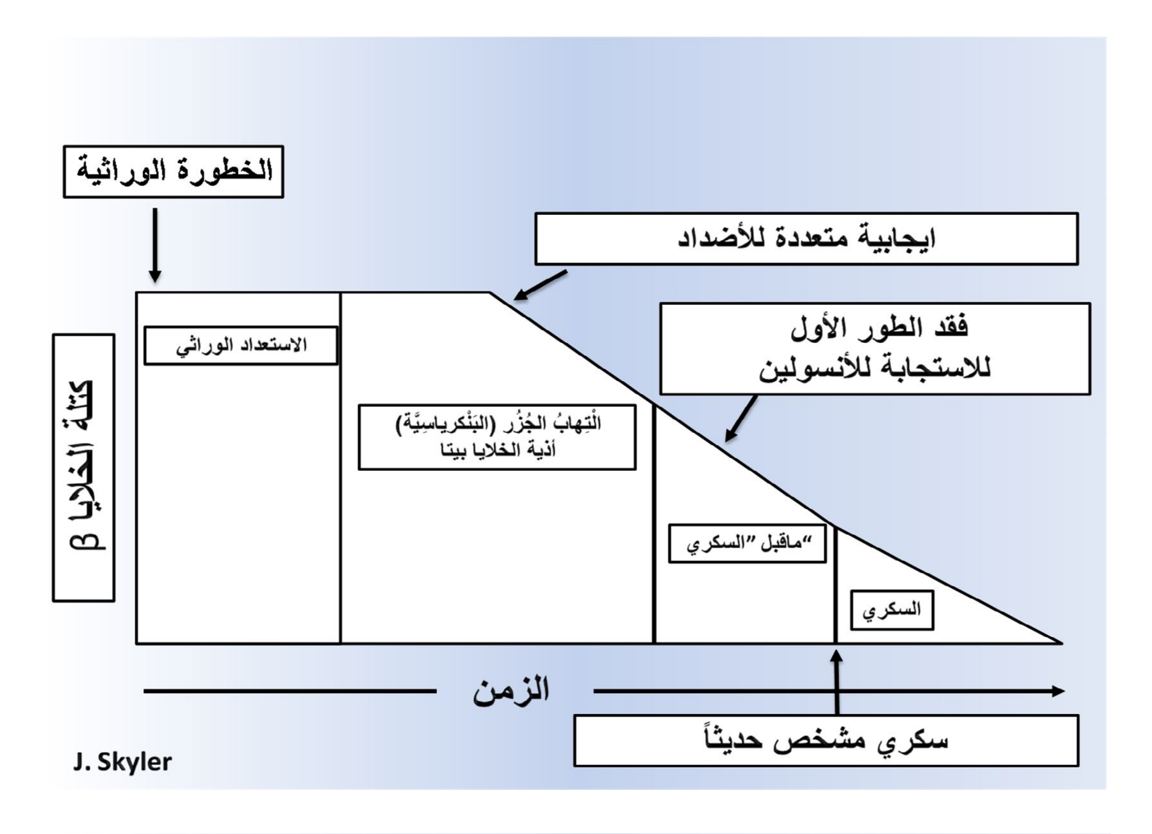
يعتبر المساق ما قبل السريري لمرض LADA غير معروف. افتراضياً توجد إمكانيتان لتفسير آلية المرض. أولاً مريض LADA لديه إما مناعة ذاتية ضد الخلايا الجزيرية لفترة طويلة وتخرب بطيء الترقي للخلية β خلال عدة سنوات و ثانياً حدوث المناعة الذاتية لأول مرة عند البالغين مع طور ما قبل سريري قصير.

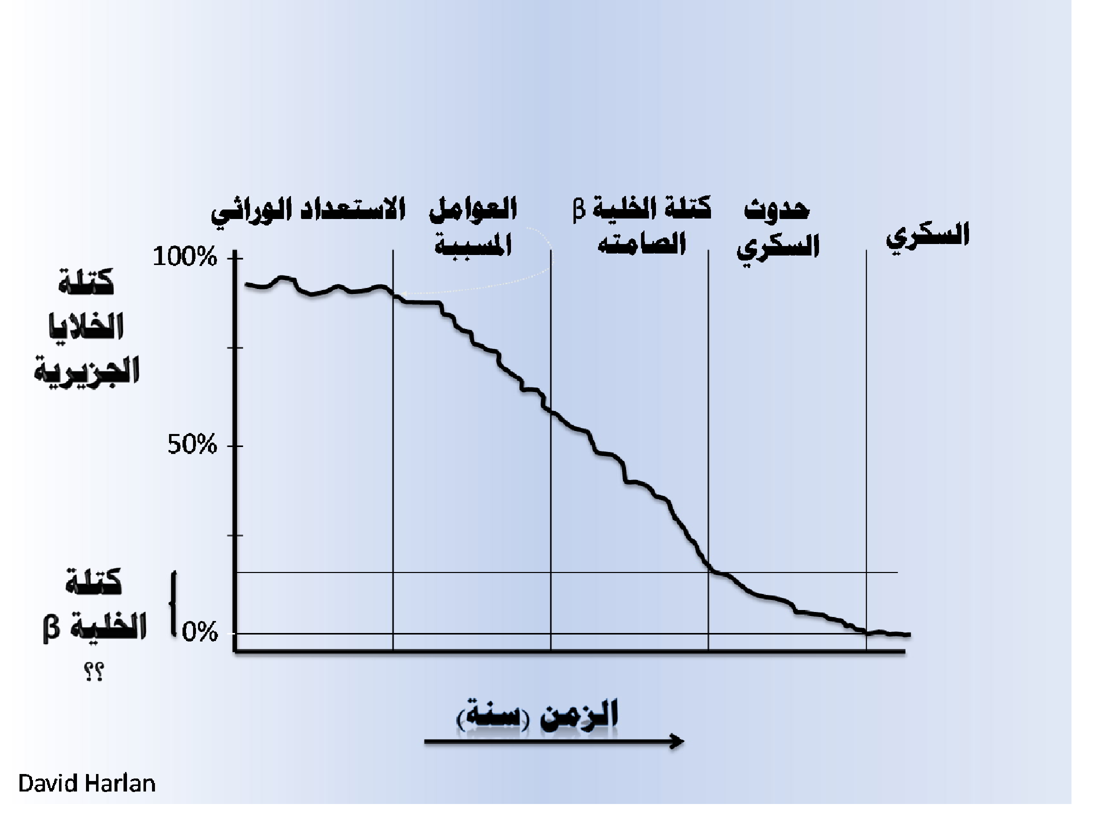
أظهرت دراسة Gottsäter تدهوراً مشابهاً في وظيفة خلايا- β في السكري المناعي الذاتي عند البالغين و السكري نمط ١ خلال ٢-٣ سنوات من الإصابة . عادة يعرض المرضى الذين يعانون من LADA وظيفة خلايا-β مصانة بشكل أكثر من تلك الموجودة في السكري نمط ١ الكلاسيكي (٣١).

يعتبر معدل الترقي للعملية المناعية الذاتية في مرضى LADA أقل عدوانية مما هي عليه في السكري نمط١ كلاسيكي بسبب اقتصار نوعية الأضداد الجزيرية الذاتية المعروفة غالباً على أضداد GAD (٧٧-٧٩).

تعتبر دراسة النسيج البنكرياسي عند مرضى LADA محدودة. و كشفت دراسة يابانية على نساء مصابات بعمر ٦٥ سنة إرتشاح الخلايا التائية للجزيرات البنكرياسية (التهاب الجزر) (٨٠). أظهرت دراسة يابانية عند البالغين مع سكري نمط١ بطيء الترقي وجود نوع خاص من الحواتم في المطراف-N الخطي للأضداد GAD٦٥ و ارتبط مستوى هذه الأضداد بشكل عكسي مع زمن الاعتماد على الأنسولين (٨١). لاحظ Brooks-Worrell و رفاقه تآثر خلايا الدم وحيدة النواة مع الجزيرات البنكرياسية البشرية المنحلة عند مرضى سكري نمط ٢ ايجابيي الأضداد الجزيرية (٨٢) و لكن لم يتم تحديد نوع المستضد المستهدف.

الشكل (١) يوضح مساق إمراضية السكري نمط ١ المعدل من قبل Atkinson **و** Eisenbarth
(www.barbaradaviscenter.org)



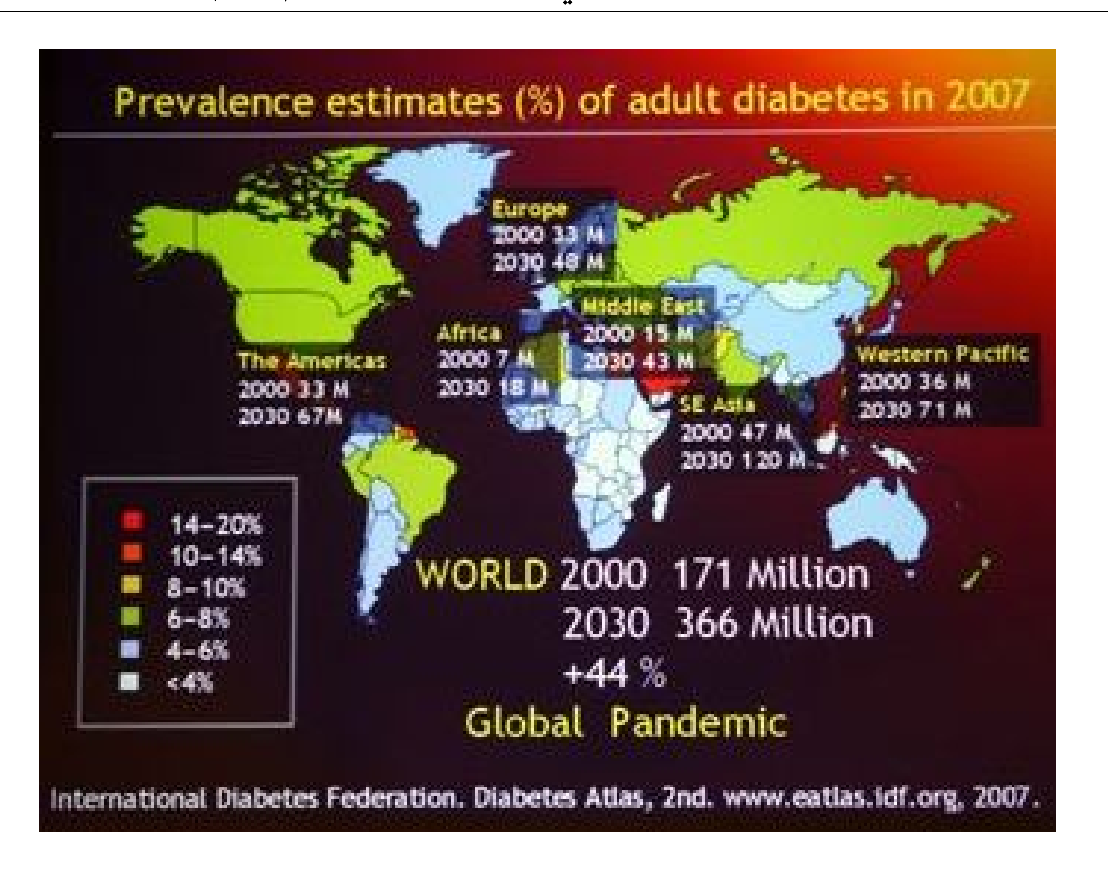


و-وبائيات

يعتبر مرض السكري في قائمة الأمراض الخمسة الأهم في العالم المتقدم، بل كذلك في بقية المناطق الأخرى في العالم. يتوقع أن يتطور السكري نمط ٢ إلى مستويات وبائية في غضون ١٠-٢٠ سنة القادمة (شكل ٢). يعاني حوالي ١٧١ مليون شخص حول العالم (٢.٨ % من تعداد السكان عالمياً) من مرض السكري طبقاً لمنظمة الصحة العالمية عام ٢٠٠٠ (٨٣) و يعتبر المرض في تزايد مستمر وسريع. بحلول عام ٢٠٣٠ من المرجح أن يتضاعف الرقم بنسبة ٤٤.٤% (٨٣) و يُتوقع أن تحدث الزيادة الأكبر في عدد المرضى في آسيا و أفريقيا. يعتبر التحول الديموغرافي الأهم في مرض السكري هو الانتشار العالمي للمرض بفئات عمرية أكثر من ٦٥ سنة من العمر (٨٣).

عالمياً تصل نسبة المصابين بالسكري نمط ١ لـ ٥-١٠%، و السكري نمط ٢ لـ ٩٠-٩٥ %. تعاني المجموعة السكانية العربية من نسب عالية من حدوث السكري (١٠%) كما تشير معظم الدراسات الإقليمية العربية. تشكل التكاليف السنوية الصحية الناجمة عن السكري ومضاعفاته إلى حوالي ٦ إلى ١٢ % من إجمالي النفقات الصحية و يلعب السكري نمط ٢ دوراً رئيسيا في المساهمة في حدوث الوفيات و الإمراضية.

شكل (٢) انتشار مرض السكري على مستوى العالم لعام ٢٠٠٧



يعتبر LADA أكثر شيوعا من السكري نمط ١ الكلاسيكي و يشكل حوالي ١٠ % من حالات الداء السكري نمط ٢ للأشخاص بأعمار ٣٥- ٧٥ سنة (٨، ١١) و بنسبة أكبر من ٢٥% من مرضى السكري نمط ٢ بأعمار أقل من ٣٥ سنة (٨).

عالمياً تتفاوت معدلات انتشار الداء السكري المناعي الذاتي عند البالغين باختلاف الدراسات و المعايير المعتمدة عليها و التنوع العرقي (٦، ٨، ١١، ١٥، ٦٨، ٨٤-٨٧). يشير الجدول ٤ إلى بعض الدراسات العالمية التي ركزت على دراسة الداء السكري المناعي الذاتي عند البالغين بناءً على المعايير السريرية للدراسة والايجابية لأضداد GAD و/أو ICA و/أو نادراً IA2 عند مرضى مشخصين سابقاً كسكري نمط ٢ . في أكبر دراسة أجريت في أوربا (بريطانيا) لوحظ أن تقريباً ١٠% من المرضى المصابين بالسكري نمط ٢ هم ايجابيو الأضداد الذاتية المضادة للخلية β البنكرياسية و لديهم LADA (8) بينما تراوحت وتيرة انتشار مرض LADA في الصين ١٦ % و في تايلاند ٢٥% من المصابين بالسكري نمط ٢ .

جدول انتشار الداء السكري المناعي الذاتي عند البالغين بناءً على الايجابية لأضداد مرضى مشخصين سابقاً كسكري نمط ٢

الدراسة	الانتشار (٪)	الأضداد المستخدمة
بريطانيا (٨)	10	ICA أو GAD
هولندة (٣٤)	2.8 7.6	GAD ICA
غرب فيلندا (١١)	9.3 0.5	GAD IA2 أو ICA
الصين(٣٨)	16	GAD
تايلاند (٨٥)	٢٥	GAD
هولندة (١٨)	11.6	GAD
اليابان (٢٧)	3.8	GAD
الولايات المتحدة و كندا (١٥)	4.7	GAD
أوروبا (١٥ دولة) (١٥)	3.7	GAD
الولايات المتحدة (٣ مجموعات عرقية) (٨٦)	1.2, 3.7, 6.3	GAD
شمال ايطاليا (٢٠)	16	ICA و/أو GAD
ايطاليا (٨٧)	6.58	GAD أو IA2 أو ICA
ايطاليا (٣٥)	4.4	GAD

ز-الأضداد الجزيرية الذاتية و السكري المناعي الذاتي

خلال السنوات السابقة تم تقصي عائلة من مستضدات الخلايا الجزيرية عند مرضى ما قبل السكري نمط ١ المناعي الذاتي (جدول ٥) . في البداية اقتصرتحري الأضداد الذاتية المترافقة مع المرض على قياس أضداد الخلايا الجزيرية (هَيولِيّة) ICA و الأضداد الذاتية للخلايا الجزيرية السطحية (ICSAs) المكتشفة في السبعينات من القرن الماضي (٨٨-٨٩).

في الثمانينات من القرن السابق تم اكتشاف أضداد الأنسولين المناعية الذاتية (أضداد IA) (٩٠)، و أضداد ٦٤ كيلو دالتون الذاتية (KAs٦٤) (٩١) و أضداد مستقبلات الأنسولين (٩٢) و أضداد الكربوكسيببتيداز H (٩٣) و أضداد بروتين الصدمة الحرارية الذاتية HSP (٩٤).

في بداية التسعينات تم تحديد هوية المستضد الذاتي 64KA و أطلق عليه إنزيم نازعة كربوكسيل حمض الغلوتاميك الذاتي مؤدياً للتعرف على أضداد إنزيم نازعة كربوكسيل حمض الغلوتاميك الذاتية (أضداد GAD) (٥). لاحقاً ، تم تحديد سيل من الأضداد الجزيرية الذاتية بما في ذلك الأضداد الذاتية ٥١ كيلو دالتون لنازعة كاربوكسيل الأحماض الأمينية العطرية (٩٥) و الأضداد الذاتية ٣٠ كيلو دالتون مُوَلِّدُ الكيمُوتربْسين البنكرياسي (٩٦) و الأضداد الذاتية لأنزيم موضع مُصاوِغَة الــ DNA topoisomerase II (97) و الأضداد الذاتية glima ٣٨ (98) و الأضداد الذاتية GLUT2 (99) و الأضداد الذاتية الشحمية السكرية glycolipid (100) و الأضداد الذاتية غانغليوزيد GM2-1 (١٠١)، و الأضداد الذاتية IA2 (IA2As) (١٠٢-١٠٣) و الأضداد الذاتية IA2β (IA2βAs) (١٠٤) و الأضداد الذاتية ICA69 (١٠٥) و الأضداد الذاتية النوعية للخلية الجزيرية ٣٨ كيلو دالتون (١٠٦) و الأضداد الذاتية لطليعة-الأنسولين (١٠٧) و الأضداد الذاتية ٥٢ كيلو دالتون RIN الوَرَمٌ الجَزيرِيّ الجرذي (الأضداد الذاتية المتعلقة بالحصبة الألمانية) (١٠٨) و أضداد ذاتية أخرى مترافقة مع السكري نمط١ والتي مازالت قيد البحث (١٠٩-١١٠).

حديثاً تم اكتشاف أهمية أضداد ناقل الزنك الجزيري ZnT8 كواصم مناعي ذاتي عند مرضى السكري نمط ١ (١١١) كذلك تم وصف مستضدات ذاتية جزيرية أخرى مثل أوستيوبونتين osteopontin (١١٢) و ايمبورتين importin (113) و الأضداد التي تتفاعل مع خلايا شُفان (خلية مغمدة للألياف العصبية) المجاورة للجزيرات / S100beta /GFAP (البروتين الحمضي الدبقي اللُيَيفِيّ) المحيطة بالجزيرات (114) و دينسين densin و فيلترين filtrin (١١٥) و الأضداد المتفاعلة مع CD38 (١١٦).

جدول (٥) المستضدات المناعية الذاتية وحساسيتها عند السكري نمط ١

المستضد المناعي الذاتي	الحساسية	تعليق
الأنسولين	49-92%	أعلى عند الأطفال
GAD	٦٥-٧٥%	أعلى حساسية عند LADA
ZnT8	٦٥-٧٥%	ناقل الزنك الجزيري
ICA512/IA2	74%	جزيء يشبه تيروزين فسفاتاز
IA2β /Phogrin	61%	جزيء يشبه تيروزين فسفاتاز
كربوكسي ببتيداز H	10%	غير متواتر
GLIMA38	١٩%	لم يتم معرفة تسلسلها حتى الآن
GM2-1	?	غنغليوزيد
ICA69	?	تحتاج إلى دراسات أخرى لتحديد دورها في السكري
ICA12	<20%	يحتاج لدراسات أخرى
مستضدات محددة جزئيا	؟	52 kd, 37-38 kd,155 kd
مستضدات أخرى	؟	بروتين الصدمة الحرارية (HSP) / ناقلات الغلوكوز النوعية للجزر البنكرياسية

من بين الأضداد الذاتية المذكورة أعلاه شكلت أربعة أضداد ذاتية واصمات مناعية ذاتية أكثر فائدة في تشخيص الداء السكري نمط ١ وهي أضداد ICA و IA و GAD و IA2. شكل تقصي الأضداد الذاتية المضادة لمستضدات الخلايا الجزيرية دليلاً على العملية المناعية الذاتية المستمرة المخربة للخلايا β البنكرياسية (١١٧-١٢٠).

تم تأكيد أهمية الأضداد الذاتية في تصنيف السكري المناعي الذاتي في دليل التشخيص و التصنيف للسكري (7). كذلك قام Juneja و رفاقه بتأكيد أهمية أضداد ICA و GAD في تشخيص LADA بدلاً من منسب كتلة الجسم أو العمر أو القصة السريرية (121). كذلك لوحظ مساهمة ارتفاع تراكيز الأضداد الذاتية أهمية في توقع فشل الخلية β المستقبلي بينما تزامن انخفاض عدد الأضداد الذاتية الجزيرية و خصوصاً أضداد ICA لبطء الترقي في فشل الخلية β. كشفت عدة دراسات تمتد بين

١٩٩٥-١٩٩٨ تواتر أضداد ICA بنسبة ٧٠-٩٠ % ، و أضداد IA بنسبة ٤٣-٦٩ % ، و أضداد GAD بنسبة ٥٢-٧٧ % ، أضداد IA2 بنسبة ٥٥-٧٥ % عند حدوث الإصابة بالسكري نمط ١.
لقد تم تأكيد الاعتقاد بأن LADA يمكن أن يشكل جزءاً من مرض مناعي ذاتي آخر و ذلك نتيجة ترافق السكري المناعي الذاتي مع الايجابية لأضداد ذاتية مرافقة لأمراض مناعية ذاتية أخرى (١٢٦).يمكن أن يترافق بعض مرضى LADA مع أمراض مناعة ذاتية أخرى ، مثل داء غريفز و الْتِهاب الدَّرَقِيَّة المَنْسوب لهَاشيموتو ومرض أديسون ، فقر الدم الخبيث ، قُصور الدُّرَيْقات. يعتبر تصادف أمراض المناعة الذاتية مثل الدَّاء البَطْنِيّ أو فقر الدم الخبيث ظاهرة متكررة ولهذا يطلق اسم المُتَلاَزِمَة الغُدِّيَّة المُتَعَدِّدَة المناعية الذاتية على ذلك (١٠، ١٣، ١٢٢).
لوحظ ارتفاع الواصمات المصلية للدرقية و الكظر في مرضى السكري نمط ٢ ايجابيي أضداد GAD (123). كذلك تم مشاهدة الأضداد المرافقة للداء البَطْنِيّ عند مرضى LADA أكثر من مرضى السكري نمط ٢ (122). رغم ذلك تعتبر الأضداد الذاتية المترافقة مع أمراض المناعة الذاتية بشكل عام أكثر تواتراً في السكري نمط ١ كلاسيكي (١٢٤) و الداء البطني (١٢٥) و لكن لا يمكن استخدامها في عزل LADA عن السكري نمط ١.
أظهرت بعض الدراسات ترافق السكري نمط ١ بطيء الترقي مع الأمراض المناعية الذاتية الأخرى و شوهد المرض كجزء من متلازمة مُتَعَدِّدُة الغُدَد الصُّمّ المناعية الذاتية نمط ٢ (١٢٦). أظهر تقريباً ٢٥% من البالغين مع سكري مناعي ذاتي دليلاً مصلياً للإصابة بالْتِهاب الدَّرَقِيَّة المناعي الذاتي و في دراسة ايطالية كبيرة لوحظ ارتفاع تواتر أضداد TPO عند مرضى LADA (٢٤%) بالمقارنة مع مرضى السكري نمط ٢ (٥%) (١٢٣) . تم مشاهدة أضداد الغليادين (١٢٢) و أضداد انزيم ٢١- هيدروكسيلاز و انزيم ١٧- هيدروكسيلاز (١٢٣) عند مرضى LADA .

١-أضداد انزيم نازعة كاربوكسيل حمض الغلوتاميك الذاتية (أضداد GAD):
يعمل انزيم نازعة كاربوكسيل حمض الغلوتاميك في تخليق GABA الجهاز العصبي والخلايا الجزيرية (١٢٧). ينتج إنزيم GAD ضمن جميع الخلايا الجزيرية البشرية (مثل ألفا وβ و دلتا). يتم تحوير البروتين في مرحلة ما بعد الترجمة بعملية بالميتويل palmitoylation و الذي يستهدف أغشية الحُوَيصِلاَت المَشْبَكِيَّة للخلايا العصبية الصَمَّاوِيّة (128). يعتبر انزيم GAD غير نوعي للخلية أو للجزر البنكرياسية (١٢٩) ويوجد بشكل رئيسي في الجهاز العصبي كذلك يوجد في الخصية و المبيض و الكظر و النخامى و الدرقية و الكلية.
حالياً هناك ايزوميران لمستضد GAD (GAD65 و GAD67) يملكان بنية إكسون- انترون مماثلة و تشابه ٧٦% في تسلسل الحموض الأمينية مع ٢٢% في المطراف- N و فوق ٩٠% في مناطق

المطراف–C (١٣٠). تم مشاهدة أضداد GAD65 في أكثر من ٨٠% من مرضى السكري نمط ١ (٥٨) بالمقارنة فقط مع ١١–١٨ % لديهم أضداد GAD67 (٣٠).

حتى الآن تم التركيز بحثياً على أهمية أضداد GAD الذاتية (٣٠ ،٨٤) كواصم مفضل لعملية التحطم الالتهابية لخلايا β عند مرضى السكري المناعي الذاتي عند البالغين. تعتبر أضداد GAD شائعة عند مرضى LADA على عكس أضداد IA2 و أضداد الأنسولين IA التي تعتبر أكثر شيوعاً في السكري نمط ١ كلاسيكي (120). توجد الأضداد الذاتية في ٧٠–٨٠ % من حالات السكري نمط ١ عند الأطفال و البالغين اتجاه النظائر الإنزيمية لنازعة كربوكسيل حمض الغلوتاميك ذات الوزن الجزيئي ٦٥ (GAD65) (٥، ٣٤، ١٣١).

يعتبر تقصي LADA بوساطة أضداد GAD مهماً كخطوة أولية (٨، ١٤، ٣٤، ٥٩) و في دراسة حديثة تم توصية إجراء أضداد GAD و ICA عند مرضى السكري نمط ٢ (١٢١).

باستخدام البروتينات المَأْشوبة المنصهرة 35S-GAD65/67، لوحظ أن أمصال أكثر من ٩٠ % من مرضى السكري نمط ١ ارتبطت إلى وسط أو مطراف -C للــ GAD65 بالمقارنة مع ٦٥ % من الأمصال المأخوذة من مرضى LADA. في المقابل ، تم تحديد نسبة ٢٠ % من مرضى LADA مع مطراف -NH2 للــ GAD65 مقارنة مع ٥ % من مرضى السكري نمط ١ (١٣٢). في الآونة الأخيرة ، وجدت نتائج مماثلة باستخدام شُدْفَ مأشوبة رَّابِطَة للمُسْتَضِد GAD65 النوعي. يتنافس ما مجموعه ٨٧ عدة دراساتمصال مرضى السكري نمط ١ مع اثنين من الشُّدْفَ الرَّابِطَة للمُسْتَضِد الموجهة إلى الجزء النصفي من جزيء GAD65 بالمقارنة مع ٣٤ و ٢٦ % عند مرضى LADA باستخدام شُّدْفَ رَّابِطَة للمُسْتَضِد مشابهة (١٣٣).

تم تثبيت الاختلاف في الحواتم بين LADA و السكري نمط ١ باستخدام الجزيئات GAD65/67 الخَيمَرِيَّة. حدد Lernmark بالتعاون مع Kobayashi وزملائه حواتم خطية بمطراف – N في السكري بطيء الترقي ايجابي أضداد GAD تتفاعل مع أمصال مرضى سكري نمط ١ عند البالغين (٨١). بالإجمال تظهر الملاحظات السابقة التباين في نوعية حواتم أضداد GAD بين LADA و السكري نمط ١.

من ناحية أخرى أظهرت عدة دراسات التباينات في تحت أصناف أضداد GAD IgG بين LADA و السكري نمط ١. يغير الظهور المتكرر لــ IgG4 في LADA التوازن بين Th1 و Th2 و إنتاج السيتوكينات (انترلوكينات ٢ و الإنترفيرون) في الجزيرات و يؤدي أذية أخف على الجزيرات يعكسها المستوى المرتفع للببتيد–c (١٠، ٥٤، ١٣٤).

تعتبر أضداد GAD هي الواصمات المهمة لتوقع تدهور الخلايا β (8) و خاصة بتراكيز عالية (٨، ١١) أو عندما تتشارك مع أضداد أخرى مثل أضداد ICA (١٠، ١٤–١٥). و تعتبر أضداد GAD أكثر استمرارية من أضداد ICA بعد تشخيص السكري نمط ١ وأكثر ايجابية من ICA عند مرضى

LADA (١٤). يشكل تواتر LADA ٥-١٥ % بالاعتماد على دراسة ICA ولكن تكون نسبته أعلى باستخدام أضداد GAD كواصم مناعي ذاتي. تم تحري أضداد GAD في ٦٠% أو أكثر من حالات السكري نمط ١ الحديث الإصابة و في ٣-٥% من الأقرباء (١٣٥). بالإضافة للسكري نمط ١ لوحظ و جود تراكيز عاليه من أضداد GAD في ٧٠% من مرضى المصابين بمتلازمة الرجل المتيبس كمرض عصبي نادر (١٣٦).

٢-أضداد الخلايا الجزيرية السيتوبلازمية الذاتية (أضداد ICA):

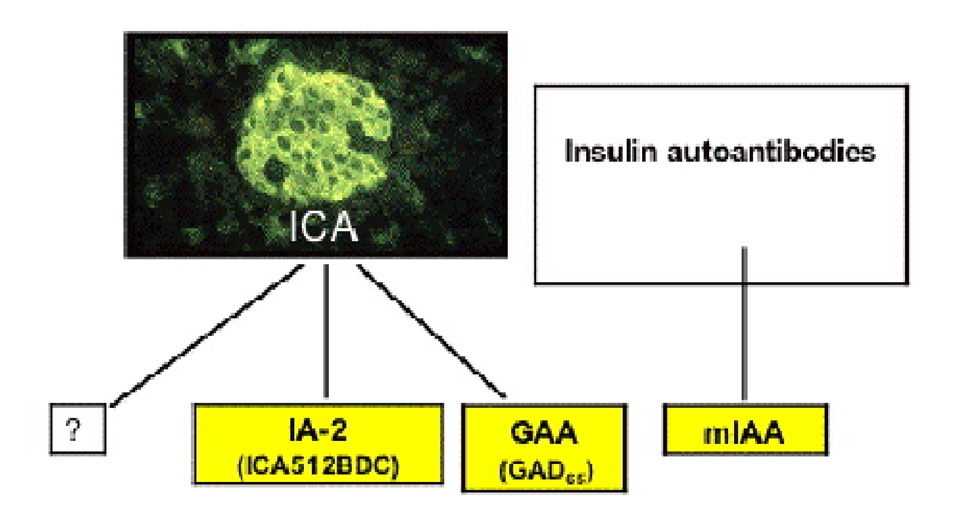
تتأثر أضداد ICA مُتَعَدِّدُة النَّسَائل مع كل الخلايا الجزيرية (α و β و γ و δ و خلايا PP). تتضمن المستضدات الذاتية الشَحْمية و البروتينية التي يتم تميزها بوساطة أضداد ICA نمط ٢ ومستضد GAD و مستضد IA2 و أضداد أخرى غير مكتشفة (شكل ٣). لا تلعب أضداد ICA دوراً سَبَبِيَّاتِيّاً في تدمير خلايا β مثل أضداد الجزيرية الذاتية الأخرى ولكنها تشكل واصمات مناعية ذاتية مهمة للخلية β.

لقد تم تحديد أهمية أضداد ICA لأول مرة في عام 1977 في ٥ % إلى ٨ % من مرضى السكري نمط ٢ مع ميل شديد في نهاية المطاف للتحول على الأنسولين (1) و اعتبر Irvine أن هؤلاء المرضى لديهم سكري نمط ١ من النوع الخافي. وجد Groop وآخرون أضداد ICA في ١٤ % من المرضى الذين تتراوح أعمارهم بين ٣٥-٧٥ سنة و الذين و ضعوا على نظام غذائي أو خافضات السكر الفموية بما لا يقل عن سنة. في بداية حدوث مرض السكري نمط ١ ، شخص ٧٠ % أو أكثر من المرضى القوقازيين و ٤٠% الأميركيين الأفارقة بالاعتماد على ايجابية أضداد ICA.

يتراجع تواتر أضداد ICA بعد التشخيص و يبقى أقل من ١٠% من مرضى السكري نمط ١ إيجابيي أضداد ICA بعد ١٠ سنوات. تعتبر أضداد الخلايا الجزيرية السيتوبلازمية ICA ايجابية في ٨٠-٩٠% من المرضى المشخصين حديثاً مع سكري نمط ١ (٣٤، ١١٨-١١٩، ١٣١) و يعتبر هذا الاختبار غير روتيني و لوحظ أن تواتر أضداد ICA عند الأطفال الأصحاء منخفضة لأقل من ٠.٥%.

تكمن أهمية أضداد ICA في الكشف عن وجود عدة أضداد ذاتية لمستضدات مختلفة في وقت واحد. سابقاً اعتبرت الحاجة إلى عينات بنكرياس إنسانية لشخص ذي زمرة O من سيئات هذا الاختبار بالإضافة لكونه اختباراً نصف كمي و مجهداً باعتماده على تقنية الفلورة المناعية التي تحتاج إلى خبرة معمقة في تفسير نتائج الاختبار (١٢٠). في المجال التشخيصي الروتيني لقد تم استبدال اختبار أضداد ICA بتحري أضداد كل من GAD و IA2 و IA. يعتبر تواتر أضداد ICA عند معظم المجموعات السكانية منخفضا. ينصح في حال سلبية أضداد GAD بإجراء أضداد ICA حيث قد يكون المستضد الذاتي المستهدف غير مكتشف حتى الآن.

الشكل (٣) أضداد ICA



٣-الأضداد الذاتية ضد بروتين فسفاتاز التيروزين (أضداد IA2):

أفاد Christie عن شدفة وزنها ٤٠ كيلو دالتون متعلقة ببروتين فسفاتاز التيروزين IA2 (ICA512) و شدفة ٣٧ كيلو دالتون لجزيء IA2 β (١٣٧). تم عزل المُسْتَضِدَّات الذاتِيّة ICA512 (IA2) و IA2 β (phogrin) بشكل مستقل من قبل عدة باحثين. يعتبر IA2 عضو عائلة بروتين فسفاتاز تيروزين (PTP) . مثل مستضد GAD يوجد مستضد IA2 في النسيج العصبي.

فحص Rabin وزملاؤه (١٣٨) مجموعة التعبير على الخلايا الجزيرية من الأمصال المأخوذة لمرضى مصابين بالسكري نمط ١ وسمى الجزيء الذي تم عزله بـــ ICA512 و لاحقاً بجزيء IA2. تقريبا كل الأضداد الذاتية التي تتفاعل مع IA2 β تتفاعل أيضا مع IA2 ، في حين أن ما يقرب من ١٠ % من المرضى الذين يطورون السكري نمط ١ لديهم أضداد ذاتية تتفاعل مع IA2 لكن ليس مع IA2β لذلك يعتبر فحص IA2β غير روتيني. تم كشف أضداد IA2 في ٥٠-٧٠% من الأطفال و اليافعين و ٣٠-٥٠ % من البالغين المصابين بسكري نمط ١ (٣٤، ١٣١). في المساق الطبيعي لدراسة الحالة ما قبل السكرية ، اقترح بعض المحققين تطور أضداد IA2 بعد أضداد GAD و قد تخدم كواصم عالي الخطورة على المدى القصير للحدوث السريري للداء السكري نمط ١(١٣). بشكل مشابه لأضداد GAD، شكلت أضداد IA2 المحور الرئيسي لأبحاث مرض السكري (١٠٢، ١٣٧) و تم الكشف عن IA2 في ٦٠% أو أكثر من حالات الإصابة الحديثة بالسكري نمط١ و اعتبر

تواتر هذه الأضداد الذاتية مشابهاً لتواتر أضداد GAD عند عامة السكان ٢–٣%. بشكل مشابه لأضداد GAD تتواتر أضداد IA2 بشكل عال عند تشخيص السكري نمط ١ عند الأطفال (١٣٩) بينما ينخفض تواترها عند مرضى السكري نمط ١ عند البالغين (٤٣)، و عند مرضى LADA (١١). اعتبر Seissler و رفيقه أن أضداد IA2 غير مهمة في تشخيص LADA (١٢٠).

٤-أضداد الأنسولين الذاتية (أضداد IA):

الأنسولين هو مَثْنَوِيٌّ مُغَاير لــسلسلة مؤلفة من ٥١ حمض أميني مرتبط بثُنائِي السَّلْفيد يتم إنتاجه نوعياً من قبل خلايا β في الجزيرات البنكرياسية. يتم إنتاج طليعة الأنسولين داخل الحبيبات الإفرازية و يعتبر المادة الطليعة للأنسولين. حتى الآن يعتبر كل من الأنسولين و طليعة–الأنسولين المستضدات الذاتية الوحيدة النوعية المعروفة لخلايا β للجزيرات البشرية بينما يتم إنتاج جميع المستضدات الذاتية الأخرى المفترضة من قبل خلايا جزيرية غير β. ينتج الأنسولين ضمن الحبيبات الإفرازية لخلايا β الجزيرية بعد تفكك طليعة–الأنسولين إلى أنسولين و ببتيد–c حيث تفرز تراكيز مولية متساوية من الأنسولين و الببتيد–c من خلايا β.

يعتبر الأنسولين المستضد المناعي الذاتي و الخلوي النمطي الذي تم تقصيه أولا (٩٠) و تم إثبات وجود أضداد للأنسولين لسنوات قبل ترقي السكري نمط 1. عادة تظهر أضداد الأنسولين الذاتية أولاً عند الأطفال الصغار المصابين بالسكري نمط ١. وخاصة عند الرضع بعمر أقل من سنة. وجد Feeney و رفاقه (١٤٠) أن أضداد الأنسولين موجودة بنسبة ٩٠% عند أطفال السكري نمط ١ بأعمار أقل من ٥ سنوات و ٧١% عند الأطفال بأعمار ٥–١٠ سنوات و ٥٠ % عند الأطفال بأعمار ١٠–١٥ سنة بينما لاحظ Bingley و رفاقه (٧٧) أن أضداد الأنسولين موجودة بنسبة ٨٣% عند الأطفال بأعمار أقل من ١٠ سنوات و ٥٦% عند الأطفال بأعمار ١٠ سنوات و ما فوق.

تعتبر أضداد IA واصماً مناعياً ذاتياً للسكري نمط ١ عند الأطفال (141) بالمقارنة مع LADA و السكري نمط ١ عند البالغين. تم كشف أضداد IA عند ٥٠–٧٠ % من الأطفال عند حدوث السكري نمط ١ بالمقارنة فقط مع ٢٠–٣٠ % عند الأعمار الأكبر (١٣١، ١٤٢). تحرّض المعالجة بالأنسولين الإنساني أو الحيواني بعد ٥–٧ أيام الأضداد ضد الأنسولين خارجي المنشأ على التشكل وتؤدي للتداخل مع أضداد IA. لذلك يعتبر اختبار أضداد IA بدون أهمية عند المرضى المعالجين بالأنسولين (١٢٠).

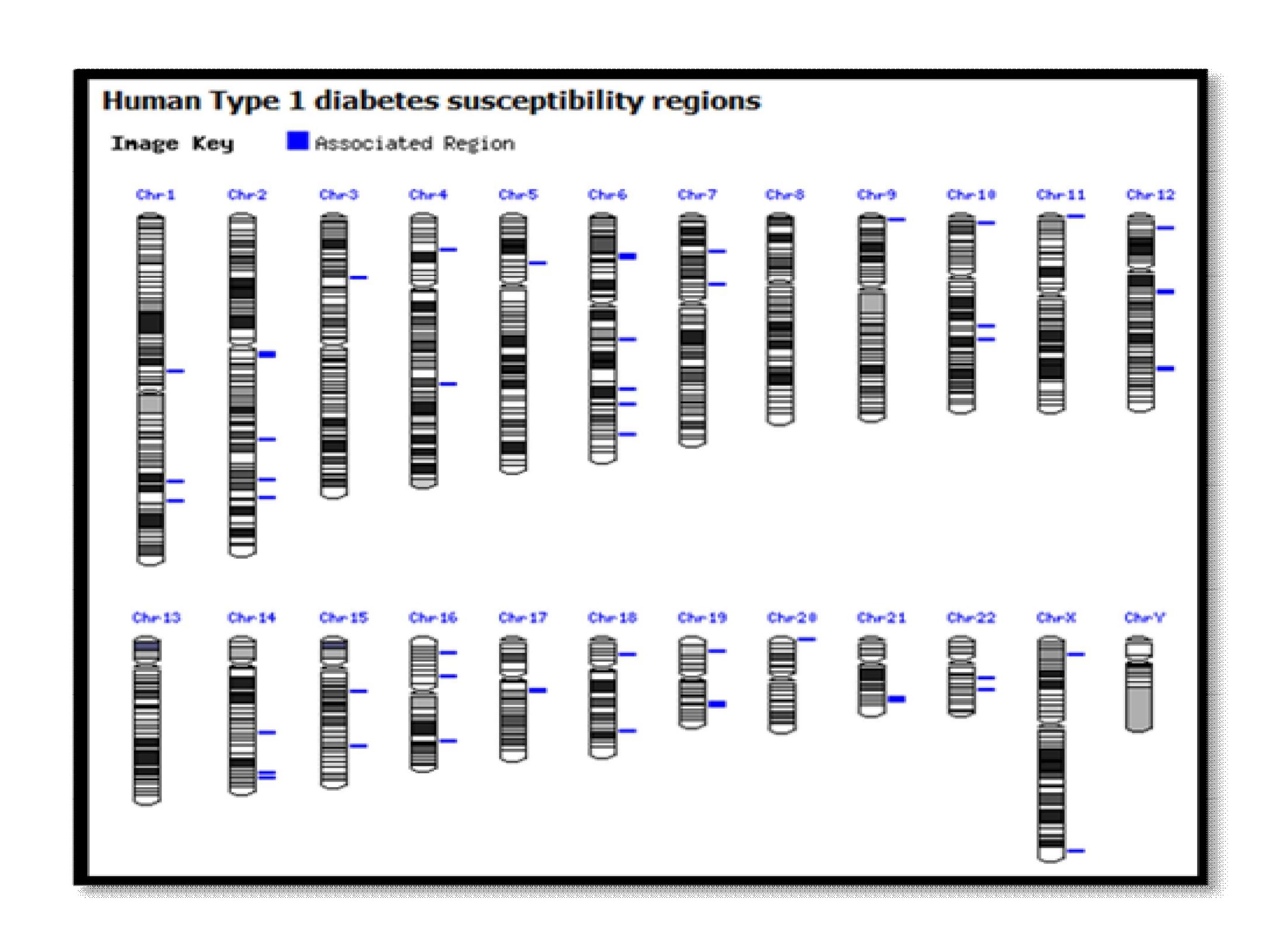
أظهرت دراسات متعددة وجود أضداد IA في حالات مرضية أخرى مثل مرض غريف 13–44% و هاشيموتو23–16% (١٤٣) وأديسون ٤٠%, و التهاب الكبد المزمن ٣٦% و فقر الدم الخبيث ٤٠% و الذئبة الحمامية الجهازية ٢٩% و التهاب المفاصل الرثوي ٢٥% (١٤٣) ولكن لم تدرس أهميتها في مثل هذه الأمراض حتى الآن.

ح-العوامل الوراثية و السكري المناعي الذاتي

تشكل الوراثة دوراً رئيسياً في الإصابة بالداء السكري نمط ١ و السكري نمط ٢. تحفز العدوى الفيروسية و لدرجة أخف الأنواع الأخرى من المحفزات مثل الضغط النفسي أو الإجهاد والتعرض للعوامل البيئية المحيطة (بعض المواد الكيميائية أو الدوائية) الإصابة بالسكري نمط١. في السكري نمط ١ هناك تنوع في النواحي الوراثية المؤهبة للمرض (شكل ٤) و تلعب بعض العوامل الوراثية مثل جينات نظام HLA دوراً في استجابة الفرد لهذه المحفزات بينما لا تشكل أي أهمية في حدوث السكري نمط ٢. تم ربط حوالي ١٨ ناحية من المَجين بالخطورة للإصابة بالسكري نمط ١ و أعطيت الرمز من IDDM1 حتى IDDM18 (جدول ٦) يعتبر نظام HLA وحده مسؤولاً تقريباً عن ٥٠% من الإصابات العائلية للسكري نمط١ (١٤٤) لذلك يعتبر نظام HLA (IDDM1) الذي يرمز لبروتينات الاستجابة المناعية أكثر النواحي دراسة .

شكل (٤) نواحي الاستعداد الوراثي في السكري نمط ١

(http://www.t1dbase.org/cgi-bin/dispatcher.cgi/)



جدول (٦) نواحي الاستعداد الوراثي في السكري نمط ١ المكتشفة و التي مازالت قيد الدراسة

الجين المرشح	الصبغي	الموضع
HLA DR/DQ	6p21.3	*IDDM1*
INSULIN VNTR	11p15.5	*IDDM2*
PTPN22 (LYP)	1p13	*PTPN22*
SUMO4	6q25 (IDDM5)	*SUMO4*
	15q26	*IDDM3*
MDU1, ZFM1, RT6, ICE, LRP5, FADD, CD3	11q13.3	*IDDM4*
SUMO4, *MnSOD*	6q25	*IDDM5*
JK (Kidd), ZNF236	18q12-q21	*IDDM6*
NEUROD	2q31-33	*IDDM7*
	6q25-27	*IDDM8*
	3q21-25	*IDDM9*
	10p11-q11	*IDDM10*
ENSA, SEL-1L	14q24.3-q31	*IDDM11*
CTLA-4	2q33	*IDDM12*
IGFBP2, IGFBP5, NEUROD, HOXD8	2q34	*IDDM13*
	6q21	*IDDM15*
IGH	14q32.3	*IDDM16*
	10q25	*IDDM17*
IL-12B	5Q31.1-33.1	*IDDM18*
	1q42	
	16p12-q11.1	
	16q22-q24	
	17q25	
	19q11	
	3p13-p14	
	9q33-q34	
	12q14-q12	
	19p13.3-p.13.2	

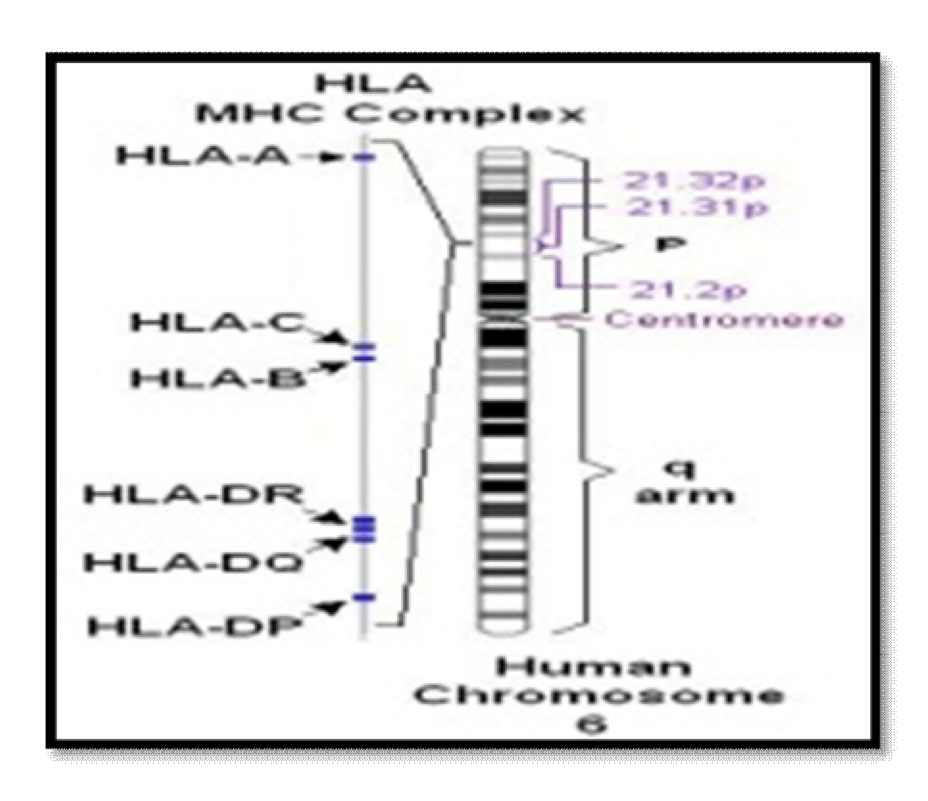
١-معقد مستضد الكريات البيض البشري HLA والداء السكري نمط ١ :

في السبعينات من القرن الماضي (١٤٥) تم اكتشاف دور مورثات معقد HLA (مستضدات التوافق النسيجي) المتوضعة على الصبغي 6 p21.3 (شكل ٥) (١٤٦) في الاستعداد الوراثي للسكري نمط ١ باستخدام الواصمات المصلية وأكد في وقت لاحق بمسح المجين البشري.

تتألف متواليات HLA تقريبا من ٣٥٠٠ كيلُو قاعِدَة من الــ DNA ويحتوي على ١٥٠ جيناً على الأقل. ترمّز جينات HLA لبروتينات سكرية تتمايز على سطح معظم الخلايا وتساعد جهاز المناعة على التمييز بين الذات (على سبيل المثال ، خلايا β في البنكرياس) و غير الذات (مثل الجَراثيم والفيروسات). هناك صنفان رئيسيان لبروتينات معقد التوافق النسيجي الكبير HLA صنف I و صنف II وكلاهما يتألف من سلاسل من الأحماض الأمينية تشكل مستضدات تتعرف عليها اللمفاويات التائية. حدد التحري الجديد للمَجين مناطق فرعية صنف II مثل (مَواضِع HLA-DR ، HLA-DQ ، HLA-DP). يرتبط خطر الإصابة بأمراض المناعة الذاتية في الجسم أحيانا بألائل جينات HLA . يعتبر السكري نمط ١ فريداً من أمراض المناعة الذاتية من حيث علاقته بألائل HLA المؤهبة ، أو الحيادية ، أو حتى المحصنة من المرض. يمكن لوراثة ألائل خاصة من HLA أن تسبب تقريباً لنصف المخاطر الوراثية لتطور مرض السكري نمط ١ (١٤٧). ترتبط الجينات المرمزة لبروتينات HLA الصنف II بشكل قوي مع مرض السكري نمط ١ ، و تدعى هذه الجينات بـــ HLA-DQ و HLA-DR و HLA-DP مع احترام تسلسلها من ناحية الخطورة. عموماً يشكل موضع HLA–DQ العامل الأكثر ارتباطا مع الاستعداد للإصابة بالسكري نمط ١ (١٤٨).

يحتوي موضع IDDM1 على العديد من جينات الاستعداد، و لا يزال من الصعب تحديد ألائل الاستعداد النوعية بسبب اخْتِلاَل التَّوازُن الارْتِباطِي بين الجينات. أدى ارتباط الانماط الفردانية لجينات HLA-DR أو HLA-DQ لتعقيد دراسة الآثار المترتبة عنها و جعل من الصعب تمييز تداخل تأثير أي منها على مرض السكري. على الأقل تم العثور على أليل واحد من DR3 أو DR4 في ٩٥% من القوقازيين المصابين بالسكري نمط ١ بينما لوحظ ميل لتوريث الألائل المحصنة DR2 و DQ معاً.

شكل (٥) معقد -HLA على الذراع القصيرة للصبغي ٦



٢-ألائل DQ و السكري المناعي الذاتي :

يتألف موضع DQ من جيني DQA1 و DQB1 مرتبطتين بشكل وثيق يرمّزان لبروتينات سكرية α و β على التوالي . ترتبط هذه الجزيئات بشكل لا تساهمي لتشكل مَثْنَوِيَّات مُغَايرة α– β وظيفية. تزن السلسلة β تقريباً ٢٦–٢٨ كيلو دالتون و تحتوي على ٥ إكسونات. يرمّز الإكسون الأول للببتيد الرئيسي و الإكسون الثاني و الثالث لميادين بروتينية خارج الخلية و الإكسون الرابع للميدان عبر الغشاء و الإكسون الخامس للذيل الهيولي. يشاهد التبدل الأليلي بشكل رئيسي في الأكسون الثاني الذي يترافق مع فَلْح الرابط الببتيدي. يعتبر انْتِساخ كل من DQA1 و DQB1 معقداً ويتطلب عوامل فاعلة مَقْرونة و مَفْروقة. يؤثر تنوع المُتَوالِيَات للمِعْزاز promoter على تعبير المورثة ويمكن أيضا أن يترافق مع إمراضية الاضطرابات المناعية الذاتية. بالإضافة لذلك تظهر فعاليات ما بعد الانْتِساخ تأثيراً على خطورة المرض. على سبيل المثال يمكن أن يتشكل المَثْنَوِي المُغَاير DQ α–β الوظيفي من الارتباط غير التساهمي لمركبات مورثات DQA1 و DQB1 في الشكل المقرون. بشكل بديل يمكن أن تقدم البروتينات السكرية α و β المرتبطة جزيئات ترمز بوساطة جينات في الوضع المفروق. لوحظ أيضا مشاهدة جزيئات هجينة من بروتينات DQ السكرية مع بروتينات DR أو DP السكرية .

تعتبر مورثات DQA1 و DQB1 متعَدِّدَة الأَشْكال بشكل كبير (جدول ٧) و حالياً هناك ١١٢ أليل DQB1 تم تحديدها. قبل تطور التقنيات الجزيئية شكل التنميط المصلي لنظام HLA المعيار الأساسي في هذا المجال و الذي استبدل حالياً بالألائل الوراثية باستخدام التقنيات الجديدة في البيولوجيا الجزيئية. يبين الجدول ٨ الأنماط المصلية و ما يقابلها من ألائل DQB1 الرئيسية و عددها ٢٠ .

جدول (٧) التعدد الشكلي لنظام HLA الصنف II (IMGT/HLA Database 7-8-2010)

HLA الصنف II										
الجين	DOB	DOA	DMB	DMA	DPB1	DPA1	DQB1	DQA1	DRB	DRA
الأليل	9	12	7	4	141	28	112	35	902	3
البروتين	4	3	7	4	123	16	82	26	690	2

جدول (٨) ألائل DQB1 و النمط المصلي المقابل

النمط المصلي	**ألائل DQB1**
DQ2	*0201 /*0202 /*0203
DQ4	*0401 / *0402
DQ5	*0501 / *0502 / *0503 / *0504
DQ6	*0601 / *0602 / *0603 / *0604 / *0605 / *0609
DQ7	*0301 / *0304
DQ8	*0302 /*0305
DQ9	*0303

٣-ألائل استعداد DQB1 في السكري المناعي الذاتي :

عالمياً ركزت أغلب دراسات الأنماط الوراثية لنظام HLA في السكري نمط ١ على الأطفال بينما اعتبرت الدراسات التي أجريت على النمط ١ عند البالغين قليلة نسبياً . تترافق متواليات DNA التي ترمز للحمض الأميني بدلا من حمض الأسبارتيك في الناحية ٥٧ (non-Asp-57) مع سكري نمط ١ في جميع المجموعات العرقية المدروسة باستثناء اليابان (١٤٧). بشكل خاص تعتبر ألائل DQB1 0302* و 0201* (٤٣-٤٤، ١٤٨-١٥٩) الذين على اختلال التوازن الارتباطي مع الأنماط الفردانية DR4 و DR3 على التوالي (التي تتألف من مشاركة نوعية لمورثات HLA الصنف DQA1 II و DQB1 و DRB1) واصمات استعداد خاصة للسكري نمط ١ و تعتبر ألائل DQB1 بدون حمض الاسبارتيك في الناحية ٥٧ محايدة بشكل عام (مثل 0501* و 0502* و 0604* و 0605*) .

أظهر مشروع منظمة الصحة العالمية DIAMOND (١٦٠) و مؤتمر و ورشة عمل التَوافُق النَسيجِيّ العالمي الثاني عشر (161) (جدول ٩) و دراسة DAISY (١٦٢) و دراسة DIPP (١٦٣) أهمية التنوع العرقي و الجغرافي لتواتر ألائل DQB1 عند مرضى السكري نمط ١. أكدت الدراسات السابقة و عدة دراسات أخرى على اختلاف الأنماط الفردانية و ألائل DQB1 المؤهبة للسكري نمط ١ بين الشرق (أغلب دول شرق آسيا ماعدا الصين) و الغرب (القوقازيين) (١٥٦، ١٥٧، ١٦٤-١٦٥). في تلك الدراسات تم تقصي انتشار ألائل DQB1 المؤهبة للسكري نمط١ المترافقة مع الأنماط الفردانية DR3 و DR4 حيث لوحظ انتشار ألائل DQB1 0302* و 0201* عند القوقازيين و ندرتها عند الآسيويين بينما لوحظ انتشار لألائل DQB1 0401* و 0303* المترافقة مع الأنماط الفردانية DR4 و DR9 عند الآسيويين كعوامل استعداد للمرض. عربياً في الدراسة التي أجريت في تونس (١٦٦) على عينات مرضى السكري نمط ١ كلاسيكي الممثلة لثلاثة مجتمعات عربية هي البحرين و تونس و لبنان لوحظ أهمية الأنماط الفردانية الحاوية ألائل DQB1 0201* في حدوث المرض عند كافة المجموعات المرضية المدروسة بينما لوحظ أهمية الأنماط الفردانية الحاوية على ألائل DQB1 0302* في حدوث المرض فقط عند التونسيين.

جدول (٩) تواتر ألائل DQB1 عند السكري نمط ١ و الأصحاء حسب مشروع منظمة الصحة العالمية ومؤتمر و ورشة عمل التوافق النسيجي العالمي الثاني عشر (١٦١)

ألائل DQB1	مشروع 12^{th} IHWC		الأسيويين		الأفارقة الأمريكيين		القوقازيين	
	الأصحاء (n=1936)	المرضى (n=1820)	الأصحاء (n=168)	المرضى (n=207)	الأصحاء (n=152)	المرضى (n=99)	الأصحاء (n=192)	المرضى (n=163)
0201*	.22	.40*	.04	.07	.18	.46*	.22	.30
0301*	.20	.06	.18	.07*	.19	.09*	.17	.10*
0302 *	.08	.33*	.10	.18	.03	.18*	.09	.31*
0303*	.04	.02	.10	.24*	.01	.03	.05	.02
0401*	---	---	.10	.21*	---	---	---	---
0402*	.03	.03	.03	.01	.07	.01*	.04	.04
0501*	.12	.07	.08	.08	.16	.11	.13	.10
0502*	.04	.02	.01	.005	.02	.02	.03	.02
0503*	.04	---	.03	.01	.01	.01	.03	.003
0601*	.01	---	.16	.05*	---	---	.003	---
0602*	.10	.01	.07	.01*	.23	.05*	.13	.01*
0603*	.07	.01	.02	.002	.04	.02	.05	.02
0604*	.04	.03	.06	.05	.03	.02	.03	.06
0605*	.01	---	.02	.01	.02	.01	.03	.01

٤-ألائل DQB1 المحصنة في السكري المناعي الذاتي :

أظهرت الدراسات السابقة تنوعاً في ألائل DQB1 المحصنة من الترقي للسكري المناعي الذاتي و شكلت الأنماط الفردانية DR2 الحاوية على ألائل 0602* التي ترمز لحمض الاسبارتيك في الناحية 57 أهمية كبيرة في التحصين ضد السكري نمط ١ الكلاسيكي (٤٤، ١٤٨-١٥١، ١٥٣، ١٥٥-١٥٩، ١٦٢-١٦٣، ١٦٦). قدم مشروع منظمة الصحة العالمية DIAMOND (١٦٠) و مؤتمر و ورشة عمل التَوافُق النَسيجِيّ العالمي الثاني عشر (161) (جدول ٩) أليل DQ*0602 كعامل l محصن ضد السكري نمط ١ عند كافة المجتمعات و أليل DQ*0601 كعامل محصن ضد السكري نمط ١ عند الأسيويين فقط. عالمياً تتنوع ألائل DQB1 المحصنة من المرض وفقاً للأعراق و التوزع الجغرافي مثل 0602* و 0301* و 0402* و 0501* و 0503* (١٥٣، ١٥٥، ١٥٨-١٥٩) و لوحظ انتشار أليل 0601* عند اللبنانيين (١٦٦) و التونسيين من أصول عربية (١٥٨) و الصينيين (١٥٩).

تعتبر ألائل DQB1 0602* المرمزة للمثنويات المغايرة DQ6 الموجودة على النمط الفرداني DR2 محصنة من السكري نمط ١. من بين الأنماط الفردانية DR2 الشائعة الأربعة المشاهدة عند القوقازيين النمط الفرداني DQA1 0102*، DQB1 0602*، DRB1 1501* المرتبطة بشكل سلبي مع السكري نمط ١ في الناس الأصحاء مثل القوقازيين (١٦٧) والآسيويين (١٦٨) والأفارقة الأمريكيين (١٦٩) والأمريكيين المكسيكيين (١٧٠) يشكل أليل DQB1 0602* عاملاً محصناً من السكري نمط١ حتى لو ترافق مع ألائل HLA عالية الخطورة (١٦٧). توجد ألائل HLA عالية الخطورة بشكل متواتر عند مجموعات المرضى الشبان. يعتبر وجود أضداد الخلايا الجزيرية علامة مميزة للسكري نمط ١ ولكن حتى في حال وجود أضداد الخلايا الجزيرية يمتلك النمط الفرداني DQA1 0102*، DQB1 0602* تأثيراً محصناً ضد المرض .

٥-ألائل DQB1 و LADA :

تعتبر الأنماط الفردانية المؤهبة للمرض DR3 و DR4 مهمة عند مرضى LADA بالتشابه مع السكري نمط ١. توجد هذه الانماط الفردانية في ٩٠ % من الأطفال والشباب المصابين بالسكري نمط ١ مقابل ٢٠ % من عموم السكان. عالمياً ركزت أغلب دراسات الأنماط الوراثية لنظام HLA في السكري نمط ١ على الأطفال بينما اعتبرت الدراسات التي أجريت على النمط ١ عند البالغين قليلة نسبياً . غالبا يمتلك المرضى المصابون بـــ LADA مورثات نظام HLA والتغيرات المناعية المشاهدة في النمط السكري ١ نفسها حيث أظهرت بعض الدراسات أن الأنماط الوراثية الحاوية على ألائل DQB1 0302* و 0201* بالإضافة للنمط الوراثي 0302*/0201* أكثر خطورة تجاه

الترقي السريع عند مرضى السكري نمط ١ مما هو عليه عند مرضى LADA (٢١، ١٥١) . كذلك خلصت بعض الدراسات الأخرى بأن الأنماط الوراثية DQB1 0302* و 0201* أقل انتشاراً عند مرضى السكري نمط ١ عند البالغين مما هو عليه عند الأطفال (٤٢-٤٥) و زيادة انتشار ألائل DQB1 0302* و 0201* المؤهبة عند مرضى LADA و سكري نمط ١ عند البالغين بالمقارنة مع عينة الشاهد أو مرضى نمط ٢ (١٠-١١، ١٣، ٢١-٢٢، ٣٥، ٤٥-٤٧، ٥٤). من جهة أخرى لوحظ ارتفاع تواتر الأنماط الوراثية المحصّنة مع ازدياد عمر حدوث السكري LADA (١١، ٤٤-٤٥، ٤٧). تشكل أيضا الانماط الفردانية DR2، DQB 0602* عاملاً محصناً ضد السكري نمط١ (١٣، ٥٣، ١٧٢).

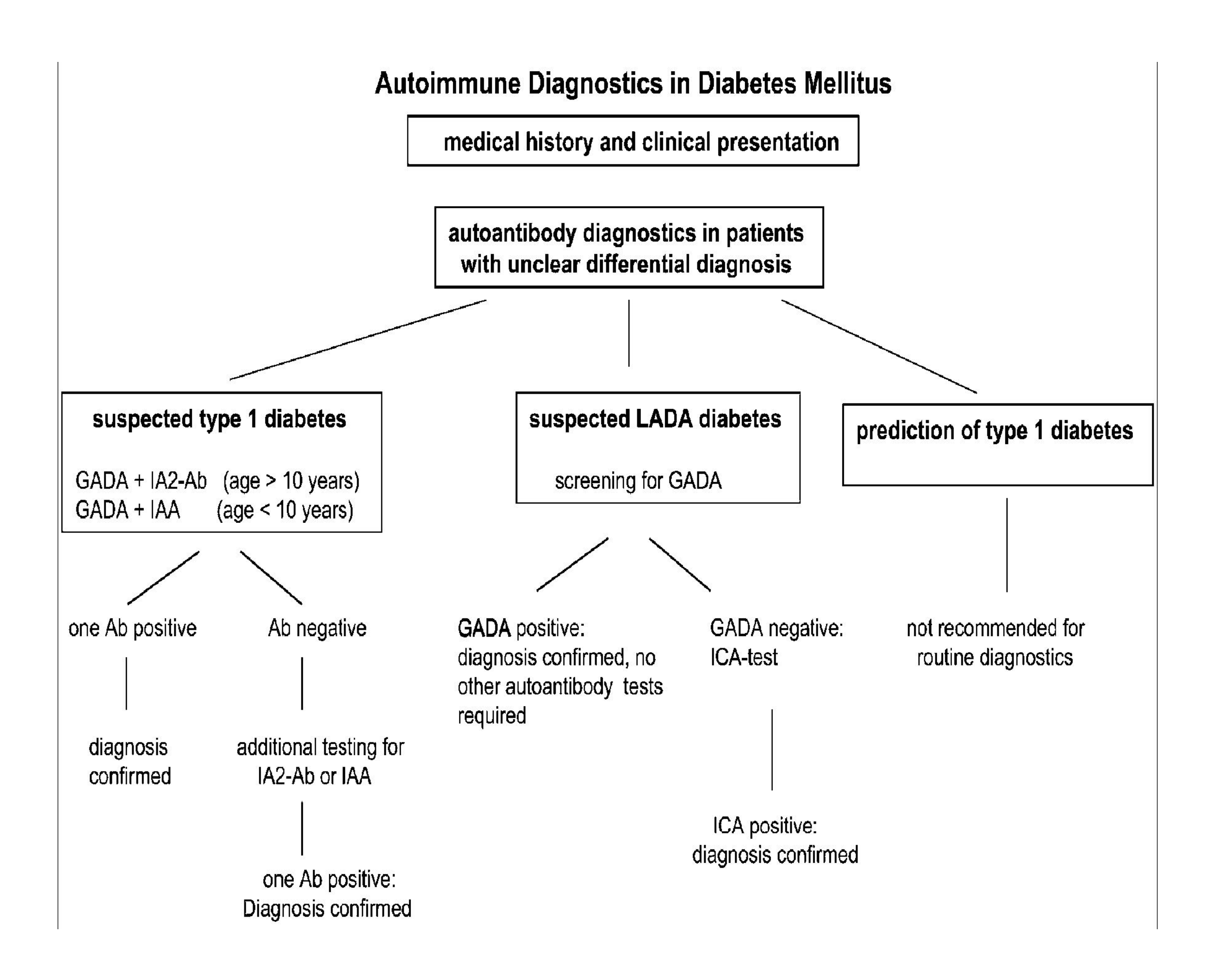
من غير المحتمل أن يطور الأطفال الذين يملكون ألائل HLA المحصنة من السكري DR2، DQB1 0602* مرض السكري (١٠) . يمتلك مرضى السكري نمط ١ عند البالغين و مرضى LADA ألائل محصنة DQB1 0602* أقل تواتراً مما هو عليه عند السكري نمط ١ عند الأطفال (١٣٤) بعكس ما شاهده Cervin و من معه من حيث ارتفاع تواتر هذه الألائل المحصنة في LADA أكثر من مرضى السكري نمط ١ (٤٧).

ط-تشخيص LADA

لقد أوضح Palmer تنوع النمط الظاهري لمرض LADA (٥٤) وبالمقارنة مع مرضى السكري نمط ٢. أظهر العرق القوقازي لديهم انخفاض في منسب كتلة الجسم ونسبة خصر على الوركين ومستوى ببتيد–c صيامي ومستوى أنسولين بعد اختبار تحمل السكر الفموي ومستوى الأنسولين و الببتيد– c بعد اختبار الغلوكوز– أرجينين) عند مرضى LADA بينما لوحظ تشابه مع النمط ٢ بالنسبة للمقاومة للأنسولين.

بناءً على عدة دراسات سابقة (٣٤، ١٣١، ١٤٢) وضع Siessler (الشكل ٦) مخططاً تشخيصياً لمرضى السكري نمط ١ كلاسيكي ركز على التحري المشترك لأضداد IA و GAD عند المرضى بأعمار أقل من ١٠ سنوات و أضداد IA2 و GAD عندا لمرضى بأعمار أكثر من ١٠ سنوات. تكشف ايجابية واحد من الأضداد الذاتية دليلاً على العملية المناعية الذاتية المترقية وتعتبر النتيجة السلبية عند الأطفال بعد احتمال وجود السكري المناعي الذاتي و ليس السكري نمط ١ مجهول السبب. يتم تحري أضداد GAD عند مرضى LADA أولاً (٨، ١٤، ٣٤، ٥٩) نتيجة لارتفاع نسبة حدوثه عند البالغين. في حال سلبية أضداد GAD لا بد من تحري أضداد ICA الذاتية كون مرضى LADA قد يكونون ايجابيين لأضداد ذاتية أخرى غير مكتشفة (١٤، ٣٤).

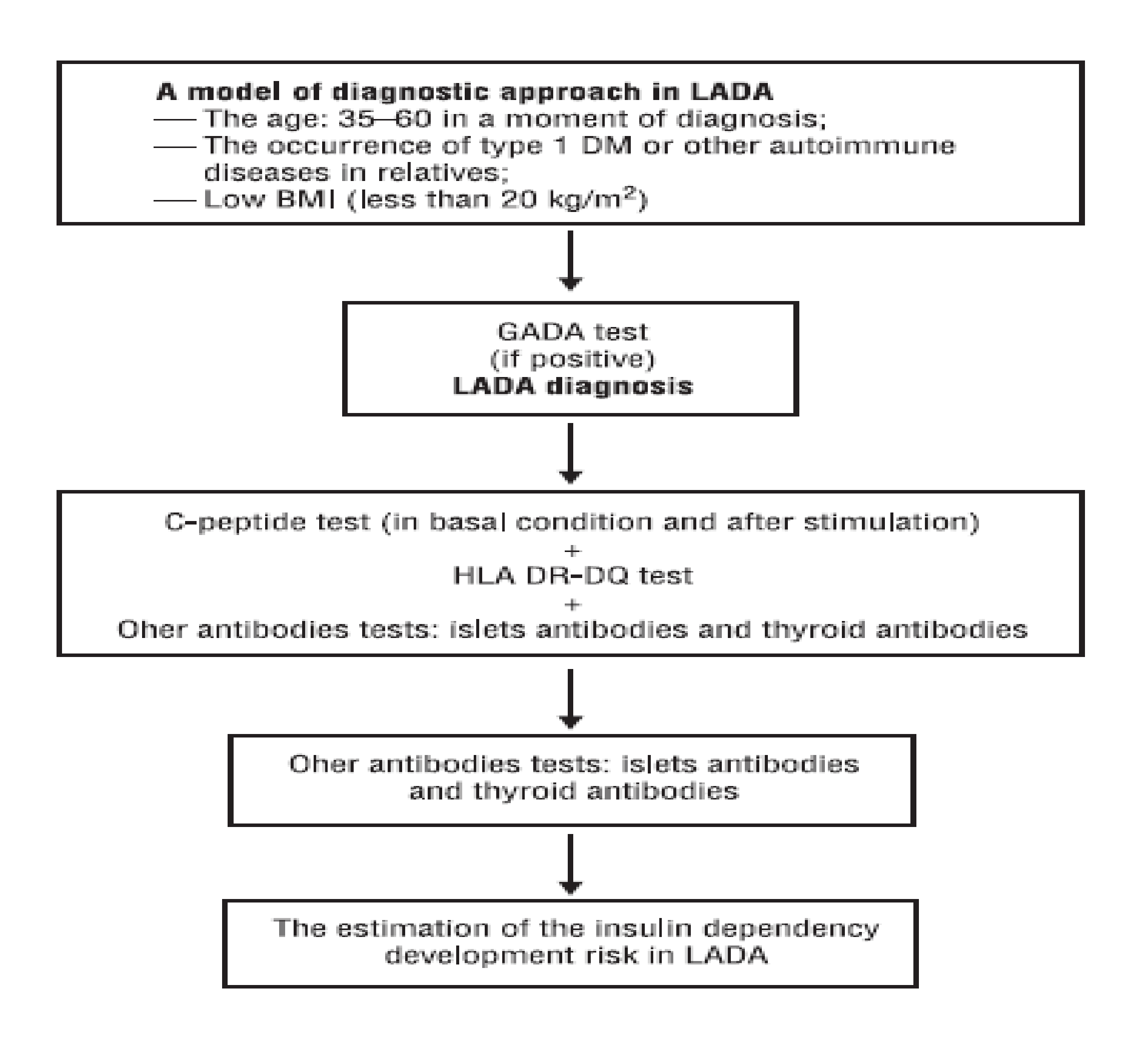
الشكل (٦) مخطط توضيحي للواصمات المناعية الذاتية المشخصة للسكري المناعي الذاتي



وضع Pozzilli و Di Mario نموذجاً آخر لتشخيص LADA (الشكل ٧) و شكّل اختبار أضداد GAD خطوة هي الأولى للتشخيص المبكر للمرض عند المرضى الذين يعانون من سكري نمط ٢ و يشتبه بإصابتهم بـــ LADA بناءً على عمر الحدوث أثناء تشخيص المرض (٣٥-٦٠ سنة) أو/و وجود قصة عائلية للسكري نمط ١ أو أمراض مناعية أخرى أو/و منسب كتلة جسم منخفض أقل من ٢٠ كغ/م^{2}. في المرحلة الثانية بعد إثبات الايجابية لأضداد GAD يعتبر اختبار إفراز الببتيد-c ضرورياً في تقييم وظيفة خلايا β و يساعد في اتخاذ قرار التحول للمعالجة بالأنسولين (١٣، ٥٢). كذلك يشكل اختبار الانماط الوراثية DQ و DR أهمية في تأكيد المرض و تعتبر الأضداد الذاتية الأخرى المضادة للخلايا الجزيرية و أضداد الدرقية مهمة في تقيم الحالة المرضية.

بالإضافة لذلك اعتبر انخفاض منسب كتلة الجسم إشارة للتطور السريع للمرض نحو الاعتماد على الأنسولين على الرغم من عدم حتمية ذلك لصالح LADA حيث لوحظت حالات من مرضى يعانون من السمنة المفرطة و مصابون بـــ LADA .

شكل (٧) طراز تشخيص مرض LADA حسب Pozzilli و Di Mario



ي-المتلازمة الإستقلابية و أهميتها في LADA (٥٦)

تعتبر مساهمة المقاومة للأنسولين في أمراضية LADA مثيرة للجدل وتعتبر أهميتها ضعيفة بالمقارنة مع مرضى السكري نمط ٢ (١٥) ومشابهة لذلك المشاهد عند مرضى السكري نمط١ (١٥، ٥٥). حتى الآن لا يوجد تعريف متفق عليه للمتلازمة الإستقلابية واقترحت منظمة الصحة العالمية تعريفها بوجود عدم تحمل للسكر أو سكري صريح مع مكونين أو أكثر من العناصر التالية:

-فرط ضغط الدم الشرياني ≤ ١٤٠/٩٠ مم زئبقي.

-ارتفاع شحوم الدم ≤١٥٠ مغ/ د.ل.

-انخفاض HLA كولسترول < ٣٥ مغ /د.ل.عند الرجال و < ٣٩ عند النساء.

-منسب كتلة الجسم > ٣٠ كغ /م٢. أو السمنة المركزية (ذكور/ معدل الخصر على الوركين> 0.90 وعند النساء >0.85).

-بيلة ميكروألبومين ≤ ٢٠ ميكروغرام /دقيقة أو معدل ألبومين على كرياتينين ≤ ٣٠ مغ/غ.

هناك عدة مكونات أخرى للمتلازمة الإستقلابية تم وصفها مثل فرط حمض البول و اضطرابات عوامل التخثر وغيرها ولكنها اعتبرت غير ضرورية. تترافق المتلازمة الإستقلابية مع الاضطراب الإستقلابي المعمم المتمثل بالمقاومة للأنسولين حيث لا يستطيع الجسم استخدام الأنسولين بشكل فعال و لذلك تدعى المتلازمة الإستقلابية بمتلازمة المقاومة للأنسولين. يشكل كل من ارتفاع الوزن و الكسل الفيزيائي و العوامل الوراثية أسباب المتلازمة الإستقلابية. يعتبر الأشخاص المصابون بالمتلازمة الإستقلابية عرضة لارتفاع الخطورة للإصابة بمرض قلبي إكليلي أو أي مرض آخر متعلق بالترسبات المتراكمة على سطح الأوعية الدموية (مثال، الجلطة و المرض الوعائي المحيطي).

بصفة عامة ، يختلف LADA عن السكري نمط ٢ من حيث المتلازمة الإستقلابية والخصائص الوراثية ، و الترقي للاعتماد على الأنسولين (٨، ١٠-١٢، ١٥).

جرى تقييم مقاومة الأنسولين من تقييم نموذج الاستِتْباب. أظهر ضبط السكر في الدم تشابهاً بين LADA و السكري نمط ٢. كما هو متوقع ، ارتبط منسب كتلة الجسم طرديا مع مقاومة الأنسولين بشكل كلي. اعتبر كل من مرضى LADA و السكري نمط ٢ بشكل معتد أكثر مقاومة للأنسولين من عينة الشاهد الطبيعي لم يلاحظ اختلاف بينهما بعد تصحيح منسب كتلة الجسم. تشير هذه الملاحظات إلى مساهمة كل من السمنة و الحالة السكرية بشكل رئيسي في مقاومة الأنسولين عند السكري نمط ٢ و LADA. بسبب معاناة العديد من مرضى LADA من السمنة تم تحديد النتيجة السريرية لمرضى LADA بدراسة التآثر بين مقاومة الأنسولين (كما في مرض السكري نمط ٢) ، و أذية خلايا β المناعية الذاتية (كما هو الحال في السكري نمط ١). يترافق تواتر المتلازمة الإستقلابية في LADA مع المقاومة للأنسولين على الرغم من قلة انتشارها بالمقارنة مع السكري نمط ٢ ولكن تعتبر أكثر

انتشاراً عند مرضى LADA بالمقارنة مع عينة الشاهد الطبيعي (١٥). في دراسة سابقة في أمريكا الشمالية (١٥) وجدت المتلازمة الإستقلابية بنسبة ٧٤% عند مرضى LADA ولكن بنسبة أكبر من ٨٤% عند مرضى السكري نمط ٢. تقترح دراسات عديدة صغيرة باستخدام طراز التقييم الاستتبابي HOMA (٥٢، ٥٥) مقاومة مرضى LADA للأنسولين.

في دراسة لحوا وزملائه (173) لوحظ انتشار عال للمتلازمة الإستقلابية عند مرضى LADA والسكري نمط١ و لكن و بعد استثناء السكري كمتحول للمتلازمة الإستقلابية جد بأن المتلازمة ليست أكثر انتشاراً في مرضى مع سكري مناعي ذاتي بالمقارنة مع الأشخاص الأصحاء وبذلك لا تعتبر المتلازمة الإستقلابية كعلامة مميزة للسكري المناعي الذاتي.

ك-تدبير LADA

باعتبار وجود نفس الآلية الإمراضية للسكري نمط ١ ولكن بشكل أخف عند مرضى LADA هناك إمكانية للوقاية من التحطم الكامل للخلايا β البنكرياسية و الحفاظ على وظيفتها المتبقية. تعتبر المحافظة على ضبط إستقلابي جيد وذلك للوقاية من مضاعفات السكري المزمنة التي تهدد حياة المريض مستقبلاً أمراً ملحاً و يعتبر فرط سكر الدم العامل الخطر المسبب للمرض القلبي الوعائي عند مرضى LADA بالمقارنة مع مرضى السكري ٢ (١٢-١٣).

يعتبر تبديل نمط الحياة مثل الحمية و التمارين الرياضية و تخفيض الوزن هاماً من ناحية تحسين ضبط السكر في السكري نمط ١ و السكري نمط ٢. عند مرضى LADA يؤدي تبديل نمط الحياة إلى ضبط السكر على المدى القصير و لكن مازالت هناك دراسات مطلوبة لتحديد أهميته لوقاية الخلية β البنكرياسية على المدى الطويل.

١-الأنسولين:

حتى الآن لا توجد منهجية علاجية لمرض LADA ولكن هناك أوراق تقترح أهمية العلاج المبكر بالأنسولين بالنسبة للطرق العلاجية الأخرى (١٧٢). يتطور حواليجة بالأنسولين مفيدة في سياق الحفاظ على إفراز الأنسولين الداخلي لفترة طويلة للحصول على ضبط إستقلابي جيد لسكر الدم.

يتطور حوالي ٨٠% من البالغين المشخصين حديثا بـــ LADA إلى الحاجة للأنسولين خلال ٦ سنوات (٨). في دراسة أخرى أدى اجتماع الأضداد الذاتية ICA و GAD و IA2 عند مريض LADA يؤدي للحاجة للمعالجة بالأنسولين خلال ثلاث سنوات (١٧٤). يشير تشخيص LADA إلى الحاجة إلى المعالجة بالأنسولين أبكر مما هو عليه في النمط ٢ نتيجة التخريب في وظيفة الخلايا β البنكرياسية. في دراسة يابانية تبحث في تأثير المعالجة بخافضات السكر الفموية (السلفونيل يوريا) و الأنسولين عند مرضى LADA لوحظ أن الجرعات الخفيفة من الأنسولين كان لها تأثير وقائي عند المرضى بعكس المشاهد عند المعالجين بالسلفونيل يوريا (١٣). عملياً تخفض المعالجة بالأنسولين أو تكبح إنتاج الأنسولين الداخلي و بالتالي تعمل على وقاية الخلايا β البنكرياسية من الهجوم المناعي الذاتي و يكون التقدم نحو التحطم الكامل للخلايا β أبطأ. أظهرت بعض الدراسات على الفئران NOD و الجرذان BB أن إعطاء الأنسولين يقي من السكري (١٣). كذلك اعتبر الإعطاء المبكر للأنسولين وقائياً بسبب خواصه المناعية المعدلة من حيث زيادة إفراز سيتوكينات خلايا TH2 و بذلك وقاية الخلايا β من الأذى المناعي الذاتي. يعتبر الدليل على أن إعطاء الأنسولين يضبط التحطم المناعي الذاتي للخلايا β عند البشر بعيداً عن الواقع التجريبي و لم يتم إثبات هذه النظرية حتى الآن. في

تجارب دراسة الوقاية من السكري في الطور الأول (Diabetes Prevention Trial 1) لوحظ أن المعالجة بالأنسولين لا تمنع أو تؤخر حدوث السكري نمط ١ عند المرضى ايجابيي الأضداد الذاتية و أقرباء (المعوزين لإفراز الأنسولين الداخلي) مرضى السكري نمط ١ (١٣). مع ذلك لا يعني فشل الأنسولين للوقاية من السكري نمط ١ بالضرورة أن المعالجة بالأنسولين لا تجنب أو تأخر حدوث التحطم الكامل لمرضى LADA و يمكن إثبات ذلك من خلال دراسات إضافية على مرضى LADA من حيث التشخيص المبكر و المعالجة المبكرة بالأنسولين لتجنب إفراز الأنسولين الداخلي المنشأ عند المرضى العالي الخطورة.

٢-محسسات الأنسولين Thiazolidinediones (TZDs):

يعتبر TZDs مضاد التهاب و بذلك يمكن أن يغير مسلك الأذى في خلايا β عند مرضى LADA. ينصح باستخدام عقار TZDs كخيار مفضل عند مرضى LADA بالمزامنة مع الأنسولين. لقد تم إثبات أن TZDs يقي خلايا β البنكرياسية عند مرضى السكري نمط ٢ يتم إثبات ذلك حتى الآن عند مرضى السكري نمط ١ ويحتاج إلى تجارب أخرى (١٣).

في إحدى الأبحاث المجراة على فئران التجربة يلعب TZDs دوراً في تخفيض الأنسولين ووقاية الفئران العجاف في تطوير السكري المناعي الذاتي.

بالمجمل يعمل TZDs وقائياً عند مرضى النمط ٢ و ذلك بتخفيض المقاومة للأنسولين و تحسين ضبط السكر و تخفيض أنسولين المصل و زيادة إنتاج الأنسولين في الخلايا β (١٣).

٣-السلفونيل يوريا (Sulfonylurea):

يحتاج التحول من خافضات السكر الفموية إلى الأنسولين لــ ٤ سنوات تقريبا عند مرضى LADA بينما يحتاج على الأقل لــ ٨ سنوات عند مرضى سكري نمط ٢. عند مرضى LADA حالياً لا توجد معالجة يمكن أن توقف تقدم المرض للحاجة للأنسولين و لكن تعتبر المشكلة من أكثر اهتمامات الصحة العامة باعتبار المرض واسع الانتشار. لم تختبر كفاءة زمرة السلفونيل يوريا رسمياً عند مرضى LADA إلا أنه لا يوجد دليل على أن زمرة السولفونيل يوريا لا توقف التقدم إلى الحاجة إلى الأنسولين.

بشكل عام يعتبر استخدام السلفونيل يوريا و الحمية الغذائية كخط أول في معالجة مرضى LADA بدون فائدة. رغم ضبط زمرة السلفونيل يوريا لفرط السكر في البداية لكنها قد تسرع عملية تحطم الخلايا β البنكرياسية بسبب تحريضها على إفراز الأنسولين (13).

٤-الميتفورمين:

حتى الآن لا يوجد دليل يحدد فائدة الميتفورمين عند مرضى LADA. نظرياً يجب تجنب استخدام الميتفورمين بسبب خطورة حدوث الاضطراب الإستقلابي (حُماضٌ لاكتيكِيّ) (١٣) وذلك عند وجود آفات تؤدي لنقص الأكسجة (مثل قصور القلب).

في دراسة على مرضى السكري نمط ١ عند اليافعين أظهر إعطاء الميتفورمين لاحقاً انخفاض معتد في الهيموغلوبين السكري A1c و خفض الحاجة للأنسولين بالمقارنة مع الأشخاص الذين لا يأخذون الأنسولين. في نموذج تجريبي للسكري المناعي الذاتي لم يلاحظ تأثير على مساق المرض أو على الإرتشاحات اللمفاوية للجزيرات البنكرياسية الناتجة عن الإمراضية المناعية الذاتية المحطمة لخلايا β (١٣).

٥-الأدوية الواعدة:

هناك عدة طرق واعدة للعلاج والوقاية من تطور LADA للاعتماد على الأنسولين و ذلك باستخدام مستضدات أو أضداد أحادية النسيلة أو الستيوكينات (175, 54).

يشكل لقاح DiaPep277 إحدى العلامات الوقائية للسكري LADA ويعتبر DiaPep277 من مضاهئات بروتين الصدمة الحرارية hsp60 الذي يأخذ دوراً في التفاعل المؤدي لتحطم الخلية β . تميز اللمفاويات التائية التي تأخذ دوراً مباشراً في إمراضية في الجزر البنكرياسية الحاتمة hsp60 المسماة p277. يؤدي التأثير الكابح لمستضدات DiaPep277 إلى تنظيم تفعيل اللمفاويات بإفراز السيتوكينات المضادة للالتهاب و الذي قد يوقف تحطم الخلايا β (175). أظهرت دراسات سريرية حالية في الطور الثاني عند مرضى سكري مشخصين باكراً أن المرضى المعالجين بلقاح DiaPep277 حافظوا على القدرة الإفرازية للأنسولين بعد التحريض بالغلوكاكون و احتاجوا للأنسولين الخارجي بنسبة أقل بالمقارنة مع عينة الغفل (١٧٦). كذلك أوضحت دراسة سريرية في الطور الثاني عند مرض LADA (177) أن استخدام لقاح مضاد للأضداد GAD الذاتية له تأثير معتد على استجابة الأنسولين لوجبة مختلطة ويؤدي إلى تخفيف العملية الالتهابية.

منهجية البحث

أ-أهداف البحث

1- تحديد انتشار LADA و تشخيصه المبدئي في مجتمعنا (اللاذقية/سوريا) عند الأشخاص المصابين بالسكري نمط ٢ من كلا الجنسين وأعمارهم من ٣٥ حتى ٧٥ سنة و ذلك بناءَ على إيجابية أضداد GAD الذاتية المضادة للخلايا-β البنكرياسية كواصم مناعي ذاتي و مقارنة الانتشار مع الدراسات السابقة المجراة في مجتمعات أخرى.

٢- فصل العينة المدروسة من المرضى إلى مجموعة مرضى السكري نمط ٢ (سلبيي أضداد GAD الذاتية) ومجموعة مرضى LADA (ايجابيي أضداد GAD الذاتية) ومقارنة المجموعتين من حيث النواحي التالية:

أ- التحاليل المخبرية بالمصل و البول بما يخص ضبط السكر و الشحوم و وظائف الكلية و وظيفة الخلية β البنكرياسية (الببتيد-c).

ب- تحديد الملامح والأعراض الحادة مثل وجود بيلة كيتونية مرافقة.

ت- دراسة المضاعفات المزمنة السريرية السكرية.

ث- تقييم المتلازمة الإستقلابية.

٣- تحديد تواتر وتوزع الأضداد الذاتية GAD و ICA و IA2 و IA في تشخيص السكري المناعي الذاتي الخافِي عند البالغين ضمن عينة من مرضى السكري المشخصين كنمط ٢ و لديهم تراكيز منخفضة من ببتيد-c ≤ ١.٢ نانوغرام/مل وتحديد المستويات المرجعية للأضداد الذاتية GAD و ICA و IA2 و IA في مجتمعنا.

٤- تحديد تواتر الأنماط الوراثية HLA-DQB1 المؤهبة و المحصّنة عند مجموعة مرضى LADA والسكري نمط ١ كلاسيكي بالمقارنة مع عينة الشاهد الطبيعي في مجتمعنا ومقارنة ذلك بنتائج الدراسات العالمية المجراة سابقاً.

ب-أهمية البحث

من الناحية الوبائية يشكل السكري نمط ٢ نسبة ٩٠-٩٥ % من إصابات السكري و التي تصيب البالغين بعمر ٤٠ سنة و ما فوق بينما يشكل السكري نمط ١ عند الأطفال ٥- ١٠ %. حتى الآن لا توجد إحصائيات كافية تدل على مدى انتشار النمط ١ عند البالغين بما فيه LADA و الذي مازال يصنف بشكل خاطئ كسكري نمط ٢ وفقاً لتنوع معطياته السريرية . حتى الآن لا توجد دراسات محددة في سوريا رغم دراسة المرض عالمياً، و تشكل دراسة انتشار LADA في سوريا و علاقته التشخيصية مع الواصمات المناعية أهمية كبيرة من الناحية السريرية و المخبرية و العلاجية.
ظاهرياً على الرغم من تصنيف LADA كسكري مناعي ذاتي وفق معطيات منظمة الصحة العالمية و الجمعية الأمريكية للسكري (٥٦-٥٧) يشكل المرض نوعاً خاصاً من السكري نمط ١ من حيث ترقي المرض و عمر حدوث الإصابة . أظهرت بعض الأبحاث تعدداً في النمط الظاهري بالتركيز على الواصمات المناعية الذاتية المشخصة للمرض و بالذات أضداد GAD حيث تم تحديد ثلاثة أنماط ظاهرية للسكري المترافق مع ايجابية الأضداد الذاتية عند البالغين وهي النمط ١ عند البالغين و النمط ٢ مع ايجابية لأضداد GAD والسكري المناعي الذاتي الخافي عند البالغين (LADA).
حتى الآن لم يتم تحديد العوامل البيئية و الوراثية المسببة للمرض بشكل دقيق و التي تعطيه صفة الترقي البطيء بدلاً من الترقي السريع كذلك لم تحدد العوامل التي تجعل شدة الإصابة المرضية و توقيت حدوثها مختلفاً عن السكري نمط ١ كلاسيكي. في عام ٢٠٠٥ أكد Fourlanos و رفاقه على ضرورة توحيد المعايير السريرية لدراسة LADA و ذلك للمساعدة على توحيد النمط الظاهري للمرض و تصنيفه بشكل صحيح و عزله عن السكري نمط ٢ و السكري نمط ١ و ذلك من أجل وضع إستراتيجية علاجية و تشخيصية و تقييس المرض من الناحية السريرية و الوبائية في المجتمعات و الأعراق كافة. لذلك ماتزال هناك حاجة لوضع إستراتيجية سريرية لتحديد احتمالية الإصابة بـــ LADA عند مرضى السكري في مرحلة البالغية.
أظهرت الدراسات السابقة عدم وجود ملمح سريري واحد يمكن أن يركن له لفصل مرضى LADA عن مرضى السكري نمط ٢. حاليا يقوم بعض الأطباء بتحري الأضداد الجزيرية البنكرياسية عند الشك بـــ LADA وذلك بالاعتماد على وزن الجسم حيث يفترض أن يكون مرضى السكري نمط ٢ البالغين سماناً. في دراسة أخرى لوحظ أن لدى معظم المرضى المصابين بـــ LADA ٢ إلى ٥ ملامح سريرية مميزة على الأقل مثل عمر الحدوث أثناء البالغية (٥٠ سنة) أو وجود أعراض حادة مرافقة أو تحديد منسب كتلة الجسم (٢٥ كغ/ م٢) أو وجود قصة مرضية شخصية لمرض مناعي ذاتي أو قصة عائلية لمرض مناعي ذاتي بالمقارنة مع مرضى السكري نمط ٢. أظهرت الدراسة التي تعتمد

على أكثر من ملمح لتشخيص LADA تفوقاً على الدراسة التي تعتمد فقط على منسب كتلة الجسم BMI (٢٥ كغ/ م٢) كمؤشر لتحري أضداد GAD و التي أظهرت حساسية تعادل ٣٠% لأن معظم المصابين بـــ LADA كانوا مفرطي الوزن أو سماناً.

بما يخص المضاعفات السريرية لـــ LADA أوضحت دراسة سابقة أن السكر غير المضبوط هو عامل الخطورة الأكبر للإصابة بمرض وعائي قلبي عند المرضى المصابين بـــ LADA بالمقارنة مع مرضى السكري نمط ٢ بينما تعزى الإصابة الوعائية القلبية في السكري نمط ٢ إلى المتلازمة الإستقلابية المرافقة للمرض.

تشخيصياً مازال تحديد توزع الواصمات المناعية الذاتية و الوراثية مهماً في تصنيف و تشخيص المرض وتحديد انتشاره. من الناحية المناعية لا توجد توصيات حالية لتحري أضداد الخلايا الجزيرية البنكرياسية عند حدوث السكري عند البالغين و يعتبر تطوير طريقة استقصاء لتحديد الأشخاص البالغين المعرضين لخطورة الإصابة بـــ LADA ضرورياً. لذلك مايزال تحديد نوع الأضداد و حساسيتها ونوعيتها في تشخيص المرض و تقييمه أمراً ضرورياً. وراثياً تعتبر الأنماط الوراثية المؤهبة و المحصنة مهمة في تشخيص المرض و توقع حدوثه حيث يمتلك أغلب المرضى المصابين بـــ LADA مورثات نظام HLA و بالأخص ألائل DQB1 المشاهدة عند مرضى السكري نمط ١ نفسها مع الأخذ بعين الاعتبار تنوع انتشار و توزع هذه الألائل بين المجتمعات و الأعراق المختلفة عند مرضى السكري نمط ١ كلاسيكي.

من الناحية الاقتصادية، بشكل عام تعتبر التكلفة المادية لعلاج مرض السكري باهظة على الفرد وأسرته وعلى الحكومات وهذا ما جعل الحكومات تسعى لتوعية مجتمعاتها من هذا الداء المنهك صحياً واقتصادياً. تشير تقديرات منظمة الصحة العالمية خلال السنوات العشر القادمة (٢٠٠٦–٢٠١٥) أنّ الصين ستخسر ٥٥٨ مليار دولار أمريكي من دخلها القومي جرّاء أمراض القلب والسكتة والسكري . لذلك يشكل تطوير إستراتيجية علاجية صحيحة عند مرضى LADA أهمية كبرى لتجنب المخاطر و المضاعفات المرضية و النفسية و الاجتماعية و الاقتصادية التي تنجم عن الإصابة بالمرض على مستوى الفرد و المجتمع.

علاجياً، أظهرت عدة دراسات عالمية ضرورة التحول للمعالجة المبكرة بالأنسولين. لذلك يعتبر ترشيد الكادر الطبي في هذا المجال مهما من حيث التحول الباكر للمعالجة بالأنسولين عند مرضى LADA بالاعتماد على تركيز الببتيد–c و الأضداد الذاتية المضادة للخلايا الجزيرية. كذلك الأمر يشكل تطبيق العلاجات الوقائية الواعدة مثل DiaPep277™ و الذي مايزال تحت التداخل السريري التجريبي دوراَ في الوقاية من المرض أو تأخير تقدمه عند المصابين بـــ LADA قبل البدء بالمعالجة بالأنسولين.

الدراسة العملية

أ-مراحل الدراسة

المرحلة الأولى: دراسة انتشار LADA بناءَ على الايجابية لأضداد GAD الذاتية المضادة للخلايا-β البنكرياسية كواصم مناعي ذاتي و فصل العينة المدروسة من المرضى إلى مجموعة مرضى السكري نمط ٢ (سلبيي أضداد GAD الذاتية) ومجموعة مرضى LADA (ايجابيي أضداد GAD الذاتية) ومقارنة المجموعتين من الناحية المخبرية و السريرية و تقييم المتلازمة الإستقلابية عند المجموعتين.

المرحلة الثانية: دراسة تواتر وتوزع الأضداد الذاتية GAD و ICA و IA2 و IA في تشخيص السكري المناعي الذاتي الخافِي عند البالغين ضمن عينة من مرضى السكري نمط ٢ و لديهم تراكيز منخفضة من ببتيد-c ≤ ١.٢ نانوغرام/مل.

المرحلة الثالثة: دراسة تواتر الأنماط الوراثية HLA-DQB1 المؤهبة و المحصّنة للمرض عند مجموعة من مرضى LADA والسكري نمط ١ كلاسيكي ومقارنته بعينة من الشاهد الطبيعي.

ب-مجموعات الدراسة

١- **مجموعة مرضى السكري نمط ٢:** شملت الدراسة ٢٧١ مريضاً سكرياً مشخصين مبدئياً كنمط ٢ من كلا الجنسين بأعمار من ٣٥ إلى ٧٥ سنة من مراجعي مركز السكري في اللاذقية و ذلك من تاريخ كانون الثاني ٢٠٠٨ و حتى كانون الثاني ٢٠٠٩. أعطي كل مريض موعداً للفحص السريري و إرشادات للتحضير لأخذ عينات الدم و البول. تم استبعاد ١٧ مريضاً من المرضى الذين اخضعوا للأنسولين خلال فترة ستة الأشهر الأولى من الإصابة بالمرض ، كذلك تم استبعاد المرضى المصابين بإصابة سرطانية أو مرض مناعي ذاتي أو اضطراب في وظيفة الدرقية عند بدء الدراسة أو المستخدمين لمضادات الالتهاب لا ستيروئيديّة أو المصابين بعَدْوَى في الأسبوعين السابقين لبداية الدراسة. علاجياً من أصل ٢٥٤ مريضاً خضع ٨٣ للأنسولين و ١٥٥ لخافضات السكر الفموية بينما فضل ١٦ مريضاً الخضوع للحمية على المعالجة.

٢- **مجموعة الشاهد الطبيعي:** تتألف من ٤٨ شخصاً من الأصحاء من كلا الجنسين و بأعمار تتراوح من ٣٥ إلى ٧١ و ذلك لتحديد القيم المرجعية للأضداد الذاتية ودراسة تواتر ألائل DQB1 لديهم حيث تم انتقاء هذه المجموعة من أشخاص غير سكريين وفق معايير منظمة الصحة العالمية و الجمعية الأمريكية للسكري جدول ١٠ .

٣- **مجموعة مرضى السكري نمط ٢ و لديهم تراكيز منخفضة من ببتيد-c ≤ ١.٢ نانوغرام/مل**: شملت الدراسة على ٧٠ مريضاً سكرياً مشخصين مبدئياً كنمط ٢ و لديهم تراكيز ببتيد-c ≤ ١.٢ نانوغرام/مل من كلا الجنسين و الذين اختيروا خلال الدراسة السابقة التي أجريت على مجموعة مرضى السكري نمط ٢ (٢٥٤ مريضاً) من مراجعي مركز السكري في اللاذقية. علاجياً من أصل ٧٠ مريضاً كان هناك ٢٧ مريضاً سكرياً يخضعون لخافضات السكر الفموية و ٤٢ مريضاً للأنسولين و مريض واحد رفض أخذ المعالجة و فضل الخضوع للحمية الغذائية.

٤- **مجموعة مرضى السكري نمط ١ كلاسيكي**: شملت الدراسة ٢٤ مريضاً سكرياً نمط ١ كلاسيكي بأعمار تتراوح من 4- 33 سنة مسجلين في مركز السكري و مشخصين سابقاً كمرضى سكري نمط ١ وفقاً لمعايير منظمة الصحة العالمية و الجمعية الأمريكية للسكري جدول ١٠.

جدول (١٠) المعايير التشخيصية للسكري وفق معايير
منظمة الصحة العالمية و الجمعية الأمريكية للسكري (٥٦-٥٧)

١	الغلوكوز البلازمي الصيامي (FPG) ≥ ١٢٦ مغ/ د.ل (٧ ممول/ل): عدم دْخولُ كالوري لمدة ٨ ساعات على الأقل.* **أو**
٢	سكر الدم بعد ساعتين من الطعام (2-h PG) ≥ ٢٠٠ مغ/ د.ل (١١.١ ممول/ل) خلال اختبار تحمل الغلوكوز الفموي OGTT. يجب انجاز الاختبار و فق معايير منظمة الصحة العالمية باستخدام الغلوكوز اللامائِيّ بوزن ٧٥ غراماً مذاباً بالماء.* **أو**
٣	في مرضى مع أعراض كلاسيكية لفرط سكر الدم أو نوبة فرط سكر الدم : عينة سكر دم عشوائية ≥ ٢٠٠ مغ/ د.ل (١١.١ ممول/ل)

** في حال غياب فرط سكر الدم الجلي يجب تأكيد أيٍّ من المعايير ١ و ٢ و ٣ بإعادة الاختبار*

ج-الإعتيان

تمت مقابلة المرضى في المرحلة الأولى و أخذت معلومات شخصية و أعطي المرضى موعداً لاحقاً من أجل تحضير أضابيرهم و مراجعتها من أجل التحضير للفحص السريري و لأخذ عينات البول و الدم و دراسة الأدوية التي يتناولها المريض. عند مراجعة المرضى في التوقيت المحدد لهم بين الساعة ٨ إلى ١٠ صباحاً في مركز السكري في اللاذقية تم إجراء الفحص السريري و استكمال معلوماتهم بما في ذلك تحويلهم للعيادات الأخرى لتقييم مضاعفات السكري إذا تطلب الأمر و تم جمع عينات المصل (٥ مل دم وريدي على أنبوب جاف) و البلازما (٥ مل دم وريدي على أنبوب هيبارين) من المرضى على الريق بعد صيام ١٢ ساعة كما تم الحصول على عينات بول صباحية طازجة مأخوذة في منتصف التبول على عبوة جمع بول أعطيت للمرضى في المقابلة الأولى. كذلك الأمر تم الحصول على عينات بلازما EDTA (١٠ مل دم وريدي) فقط للمرضى المرشحين للدراسة الوراثية.

٥-الدراسة السريرية

تمت دراسة أضابير المرضى المشخصين كسكري نمط ٢ المراجعين لمركز السكري باللاذقية و المفحوصين من قبل نفس طبيب الغدد الصم المعالج و تم تقييمهم من الناحية السريرية. بالنسبة للمرضى المعالجين سابقاً أو حديثي الإصابة تم تقييم كل مريض بعد ملء الاستمارة الخاصة به (الشكل ٨) من حيث النواحي الشخصية و السريرية بما فيها الأعراض و العلامات التي يشكو منها المريض بالإضافة لتقييم مضاعفات المرض بعد الاستعانة بأضابير المرضى الموجودة في المركز أو تحويل المريض للعيادة الخاصة (العينية –العصبية – القدم السكرية – القلبية و الوعائية) إذا تطلب الأمر . تم تقييم الاعتلال الكلوي بناءً على التحاليل المخبرية لوظائف الكلية (الكرياتينين و اليوريا و البيلة الألبومينية الزهيدة) . أجري قياس فرط ضغط الدم لكل مريض باستخدام جهاز قياس الضغط الزئبقي بوضعية الاستلقاء و اعتبر المريض مصاباً بفرط الضغط إذا كان يتناول خافضات الضغط سابقاً أو لديه ارتفاع في ضغط الدم أكثر من ٩٠/ ١٤٠ مم زئبقي.

أجريت الدراسة و التقييم السريري للمريض على النحو التالي :

١- **الهوية الشخصية:** الاسم، العمر، الجنس، مكان وتاريخ الولادة، المهنة، الإقامة ، الوزن، الطول، منسب كتلة الجسم.

2- **السوابق الشخصية**

3- **السوابق العائلية:** من حيث درجة القرابة العائلية و نمط السكري المصابين به.

٤- **الدراسة و الفحص السريري و تم التركيز عند مرضى السكري على:**

- قدم القصة السكرية .
- طريقة المعالجة.
- درجة ضبط سكر الدم.
- الأعراض المرضية وتقصي وجود أعراض حادة مرافقة.

٦- **تم التركيز على عدم وجود أي مرض إستقلابي أو جهازي أو مناعي ذاتي يمكن أن يتداخل مع دراستنا كالتالي:**

- سكري نمط ١ أو سكري ثانوي المنشأ.
- مرض مناعي ذاتي في الدرقية.
- أمراض التجويف الهضمي.
- مرض أديسون.
- البهاق.

- التهاب المفاصل الرثوي.
- فقر الدم الخبيث.
- التهاب الكبد المناعي الذاتي.
- الخباثات.
- الأمراض المعدية.
- المرضى الذين يتناولون مضادات الالتهاب اللا ستيروئيدية أو مركبات حمض أستيل ساليسيليك.

٧ - **دراسة مضاعفات السكري:**

- اعتلال الشبكية السكري المنشأ
- اعتلال الكلية السكري المنشأ
- اعتلال عصبي سكري المنشأ
- وجود مرض وعائي قلبي
- ارتفاع ضغط الدم (٩٠/ ١٤٠ مم زئبقي)
- وجود مرض وعائي محيطي

٨- **تقييم المتلازمة الإستقلابية وفقاً لمعايير منظمة الصحة العالمية** (٥٦) و التي اقترح على تعريفها بوجود عدم تحمل للسكر أو سكري صريح مع مكونين أو أكثر من العناصر التالية:

-فرط ضغط الدم الشرياني ≥ ١٤٠/٩٠ مم زئبقي

-ارتفاع شحوم الدم ≥١٥٠ مغ/ د.ل

- انخفاض HDL كولسترول < ٣٥ مغ /د.ل عند الرجال و < ٣٩ مغ /د.ل عند النساء

- ارتفاع منسب كتلة الجسم > ٣٠ كغ /م^{٢} أو السمنة المركزية (ذكور/معدل الخصر على الوركين > 0.90 وعند النساء >0.85)

الشكل (٨) استمارة البحث

الانتشار و الواصمات المناعية الذاتية و الوراثية للداء السكري المناعي الذاتي الخاق عند البالغين LADA في منطقة الساحل السوري

الرقم التسلسلي:

الاسم: الجنس: العمر: المعالجة:

المهنة: الاقامة: هاتف: قدم الاصابة/سنة:

الوزن: الطول: BMI الضغط الشرياني:

الفحص الكلوي:

الفحص القلبي الوعائي:

الفحص العيني:

الفحص العصبي:

العلامات الأخرى:

العلاجات الدوائية الأخرى:

السوابق الشخصية:

السوابق العائلية:

Glucose | Urine Glu | Cholestrol
HBA1c | Urine Pro | Triglyceride
Peptide C | Urine Kito | HDL
LDL

Creatinine
Urea
Microalbu

GADA
ICA
IAA
IA2

HLA DQB1

Others

و-منسب كتلة الجسم (BMI)

تم حساب منسب كتلة الجسم عند المرضى باستخدام الوحدات المترية حسب الصيغة التالية:

منسب كتلة الجسم= الوزن (كغ)/ الطول^{٢} (م^{٢})

تم تقييم فئة منسب كتلة الجسم وفق الجدول التالي:

الفئة	مجال منسب كتلة الجسم (كغ/م^{٢})
نَقْص الوَزْن الوخيم	< 16.5
نَقْص الوَزْن	١٨.٥-١٦.٥
طَبِيْعِي	٢٥-١٨.٥
فَرْط الوَزْن	٢٥ - ٣٠
سَمين صنف I	٣٠- ٣٥
سَمين صنف II	٣٥-٤٠
سَمين صنف III	>٤٠

ز-الدراسة المخبرية

تمت كافة الاختبارات الكيميائية الروتينية و المناعية في مختبر مشفى الأسد الجامعي باللاذقية بينما تم دراسة الاختبارات الوراثية كعزل عينات الـــ DNA و دراسة أنماط HLA- DQB1 الوراثية في مخبر الهيئة العامة للتقانة الحيوية بدمشق و مخبر التقانة الحيوية في كلية الزراعة بجامعة تشرين.

١-العتائد و الطرائق المخبرية الروتينية

تم إجراء كافة التحاليل الكيميائية الروتينية على عينات البلازما المسحوبة على مانع تخثر الهيبارين حيث تم فصل البلازما عن الخلايا مباشرة بعد سحب عينات الدم و أجريت كافة التحاليل على العينات مباشرة (سكر، كولسترول ، ثُلاَثِيُّ الغليسريد، يوريا، كرياتينين) على جهاز KONELAB (Thermo) بعد معايرة الجهاز و تطبيق عينة شاهد طبيعية و أخرى مرضية (Human). تم قياس عينات كولسترول HDL و كولسترول LDL بعد الترسيب (سَلفات البولي فاينيل / البولي ايتيلين غليكول) على عينة مصل طازجة بنفس اليوم و تمت المعايرة على جهاز المِقْياسٌ الضَوئِيّ (BioSystem BTS310). اعتمدت معايرة الببتيد-c على طريقة المقايسة المناعية الومضانية (DiaSorin S. P. A) و تمّ إجراء المعايرة على جهاز LIAISON وتمت إجراء عينات شاهد مستوى ١ و مستوى ٢ مقدمة من مشفى الأسد الجامعي بدمشق (Roche Diagnostics) مع كل تشغيل.

أجريت تحاليل سكر و بروتين و كيتون البول بوساطة الأشرطة البولية (®Analyticon Biotechnologies AG) على عينة بول صباحية طازجة مجموعة في منتصف التبول و أجري تحليل البيلة الألبومينية الزهيدة بالبول بالطريقة العكرية (BioSystem S. A.) على جهاز المقياس الضوئي (BioSystem BTS310) و تم فحص عينات شاهد مستوى ١ و ٢ للبول (DiaSys Diagnostic Systems GmbH) مع كل تشغيل.

أجري الهيموغلوبينِ الغلوكوزي بطريقة الاستشراب المُبادِلٌ للأَيونات (BioSystem S. A.) و أجريت عينات شاهد طبيعي و مرضي للهيموغلوبينِ الغلوكوزي ((BioSystem S. A. و تم قياس العينات على جهاز المِقْياسٌ الضَوئِيّ BioSystem BTS310 مع كل تشغيل. يظهر الجدول ١١ و ١٢ العتائد و الشواهد المستخدمة و طرق استخدامها و الشركة الصانعة و رمز العتيدة في كافة التحاليل الروتينية.

جدول (١١) العتائد المستخدمة في التحاليل الروتينية

العتيدة	الشركة الصانعة	الرمز	المعايرة	العينة المطلوبة	جهاز المعايرة
غلوكوز	BioSystem	11538	لوني	بلازما هيبارين	KONELAB
يوريا	BioSystem	11517	حركي	بلازما هيبارين	KONELAB
كرياتينين	BioSystem	11542	حركي	بلازما هيبارين	KONELAB
ثلاثي الغليسيريد	BioSystem	11529	لوني	بلازما هيبارين	KONELAB
كولسترول	BioSystem	11539	لوني	بلازما هيبارين	KONELAB
كولسترول HDL	BioSystem	11523	ترسيب	مصل	BioSystem BTS310
كولسترول LDL	BioSystem	11579	ترسيب	مصل	BioSystem BTS310
هيموغلوبين غلوكوزي	BioSystem	11045	الاستشراب المبادل للأيونات	بلازما EDTA	BioSystem BTS310
بيلة ألبومينية زهيدة	BioSystem	31924	عكرية (لاتكس)	بول طازج	BioSystem BTS310
ببتيد –C	DiaSorin	316.171	المقايسة المناعية الومضانية	بلازما هيبارين	LIAISON

جدول (١٢) الشواهد المستخدمة في التحاليل الروتينية

الشاهد	الشركة الصانعة	رمز العتيدة
شاهد HbA1c طبيعي	BioSystem	18001
شاهد HbA1c مرضي	BioSystem	18002
شاهد بول مستوى ١	DiaSys	٥٩١٧٠
شاهد بول مستوى ٢	DiaSys	٥٩١٨٠
شاهد ببتيد– C مستوى ١	Roche	٠٣١٨٤٩١٩
شاهد ببتيد– C مستوى ٢	Roche	٠٣١٨٤٩١٩
شاهد مصلي طبيعي*	Human	13511
شاهد مصلي مرضي*	Human	13512

*بقري مجفد يحتوي على مكونات و تراكيز مناسبة لأغلب التحاليل الروتينية من أجل مراقبة جودة التحاليل.

١-١-مبادئ الطرائق المستخدمة:

١-١-١-سكر الدم :

يعتمد مبدأ الطريقة على تأكسد الغلوكوز بوجود خميرة غلوكوز أوكسيداز (GOD) معطياً الماء الأكسجيني حيث يتفاعل هذا الأخير بوجود البيروكسيداز POD و الفينول مع ٤-أمينوانتيبيرين مولداً لوناً أحمر تتناسب شدته مع تركيز الغلوكوز في الوسط. تم اعتماد القيم الطبيعية المعتمدة وفقاً للمعايير التشخيصية للسكري لمنظمة الصحة العالمية و الجمعية الأمريكية للسكري جدول ١٠.

١-١-٢-يوريا:

يعتمد مبدأ الطريقة على المعايرة الإنزيمية UV باستخدام انزيم اليورياز حسب التفاعل التالي:

$$\text{Urea} + H_2O \xrightarrow{\text{urease}} 2NH_4^+ + CO_2$$

$$NH_4^+ + NADH + H^+ + 2-\text{oxoglutarate} \xrightarrow{\text{glutamate dehydrogenase}} \text{Glutamate} + NAD^+$$

اعتمدت القيم الطبيعية لليوريا قي المصل أو البلازما عند البالغين كالتالي:

إناث< ٥٠ سنة ١٥-٤٠ مغ/د.ل

إناث> ٥٠ سنة ٢١-٤٣ مغ/د.ل

ذكور< ٥٠ سنة ١٩-٤٤ مغ/د.ل

ذكور> ٥٠ سنة ١٨-٥٥ مغ/د.ل

١-١-٣-كرياتينين بطريقة Jaffe' المعدلة:

يشكل الكرياتينين في وسط قلوي مع حمض البيكريك مركباً ذا لون أصفر برتقالي (تفاعل Jaffe) تتناسب كثافة لونه الناتج مباشرة مع تركيز الكرياتينين في الوسط. تم اعتماد القيم الطبيعية للكرياتينين قي المصل أو البلازما عند البالغين كالتالي:

الذكور ٠.٩-١.٣ مغ/د.ل

الإناث ٠.٦ -١.١ مغ/د.ل

١-١-٤-ثلاثي الغليسيريدات:

اعتمد مبدأ الطريقة على المعايرة اللونية الإنزيمية باستخدام إنزيم أوكسيداز غليسيرول -٣- فوسفات بعد تفكيك ثلاثي الغليسيريدات بوساطة إنزيم ليباز البروتين الشحمي. يتشكل مشعر كوينويمين من ٤-

أمينوأنتيبيرين و ٤- كلوروفينول بوساطة بيروكسيد الهِيدْروجين تحت تأثير الفعل التَحْفيزِيّ لإنزيم البيروكسيداز. تم اعتماد القيم الطبيعية لثلاثي الغليسيريدات في المصل أو البلازما عند البالغين وفق معايير المعهد الوطني الأمريكي للصحة (١٧٨) و التي تعتمد عالمياً لتقييم خطورة الإصابة بمرض الشِّرْيان الإِكْليلي .

طبيعي حتى ١٥٠ مغ/د.ل

حدي مرتفع ١٥٠-١٩٩ مغ/د.ل

مرتفع ٢٠٠-٤٩٩ مغ/د.ل

مرتفع جداً > ٥٠٠ مغ/د.ل

١-١-٥-الكولسترول الكلي:

تتم معايرة الكولسترول بالحلمهة الأنزيمية حيث يعاير الماء الأكسجيني المتشكل يعاير حسب طريقة تريندر بوجود البيروكسيداز وبوجود ٤ أمينو أنتي بيرين و الفينول. اعتمدت القيم الطبيعية للكولسترول الكلي في المصل أو البلازما عند البالغين وفق المعهد الوطني الأمريكي للصحة (١٧٨) و الذي اعتمد عالمياً لتقييم خطورة الإصابة بمرض الشِّرْيان الإِكْليلي .

طبيعي حتى ٢٠٠ مغ/د.ل

حدي مرتفع ٢٠٠-٢٣٩ مغ/د.ل

مرتفع > ٢٤٠ مغ/د.ل

١-١-٦-HDL كولسترول:

تترسب جميع البروتينات الشحمية الكيلومكرونات و VLDL و LDL ما عدا البروتينات الشحمية عالية الكثافة HDL للعينة بإضافة حمض فوسفوتنغستيك و بوجود شوارد المغنيزيوم. بعد التنبيذ، يستخدم السائل الطافي الرائق الذي يحتوي على كولسترول HDL للمعايرة الكيميائية باستخدام كاشف الكولسترول .

١-١-٧-LDL كولسترول:

يترسب كولسترول البروتين الشَّحمي الخفيض الكثافة LDL بوساطة مادة سَلفات البولي فاينيل بشروط فيزيائية وتحليلية خاصة وبعد التنبيذ يعاير كولسترول البروتين الشَّحمي المُرتفع الكثافة HDL وكولسترول البروتينات الشَّحمية الوضيعة الكثافة VLDL المتبقيان في السائل الطافي. يحسب كولسترول LDL عن طريق حاصل طرح الكولسترول الكلي من ناتج المعايرة.

١-١-٨ الهيموغلوبين الغلوكوزي HbA1c باستشراب التبادل الأيوني:

بعد تحضير الحلالة الدموية من عينة بلازما EDTA المأخوذة من المرضى يتم الاحتفاظ بالهموغلوبين HbA1c بوساطة الراتين المبادل للهوابط. يتم شطف الهيموغلوبين HbA1c بعد التخلص من أجزاء الهيموغلوبين HbA1a و HbA1b و بعد الحصول على الهيموغلوبين HbA1c تتم معايرته بوساطة القياس الضوئي المباشر على الموجة ٤١٥ نانومتر و تحسب العينة و فق المعادلة التالية:

$$\text{HbA1c\%} = \frac{\text{امتصاص HbA1c}}{\text{الامتصاص الكلي Hb}} \times \frac{100}{3}$$

يتم القياس بدرجة حرارة ٢١-٢٦ مئوية مع الأخذ بالاعتبار تصحيح النتيجة بضربها بالرقم 0.90 في درجات الحرارة ٢٧-٣٠ مئوية و الرقم ١.١٥ في درجات الحرارة ١٨-٢٠ مئوية.

يتم تحويل نتائج الطريقة المستخدمة إلى قيم مضاهئة لبرنامج تقييس الهيموغلوبين الغلوكوزي الوطني للولايات المتحدة NGSP باستخدام الصيغة التالية:

$$\text{HbA1c\%} - \text{NGSP} = 0.86 \times \text{HbA1c\%} - \text{BiosystmS} + 0.24$$

اعتمدت القيم المرجعية للمجموعة البحثية لضبط السكر ومضاعفاته (DCCT) في دراستنا بحسب الجدول التالي:

درجة الضبط	DCCT / NGSP
طبيعي	٤-٦ %
القيمة الهدفية	٦ – ٦.٥ %
ضبط جيد	٦.٥ – ٨ %
اقتراح التداخل	<٨ %

١-١-٩-السكر في البول (بوساطة الأشرطة البولية):

يعتمد مبدأ الطريقة في المرحلة الأول على تأكسد الغلوكوز بوساطة الأوكسجين الموجود بالوسط بعد التحفيز بوساطة انزيم غلوكوز أوكسيداز إلى D– غلوكونولاكتون. في المرحلة الثانية يتأكسد مولد اللَّون بوساطة إنزيم هيدروجين بيروكسيد ليعطي لوناً يتراوح تدريجياً من الأصفر (طبيعي) إلى الأخضر حسب شدة تركيز السكر في البول حسب الشكل التالي:

$$Glucose + O_2 \xrightarrow{GOD} Gluconolactone + H_2O_2$$

$$Chromogen + H_2O_2 \xrightarrow{POD} H_2O + dye \text{ (blue)}$$

١-١-١٠-البروتين في البول (بوساطة الأشرطة البولية):

يعتمد مبدأ الطريقة على تحول المشعر الملون من اللون الأصفر (في الحالة الطبيعية) إلى لون متدرج ينتهي بالأخضر في التراكيز المرتفعة للبيلة البروتينية حسب الشكل التالي:

$$\text{Indicator dye (yellow)} \xrightarrow[-H^+]{Protein} \text{Indicator dye anion (blue)}$$

١-١-١١-الكيتون في البول (بوساطة الأشرطة البولية):

يعتمد مبدأ الطريقة على اختبار Rothera's حيث يتفاعل كل من الأسيتوأسيتك أسيد و الأسيتون مع صوديوم نيتروبروسيد في وسط قلوي ليشكل معقداً بلون البنفسجي حسب الشكل التالي:



حسب الإجراءات القياسية لمنظمة الصحة العالمية تم إجراء مراقبة الجودة للاختبار دورياً باستخدام شاهد ايجابي (١–٢ نقطة من الأسيتون المضاف إلى ٥ مل من البول) أو شاهد سلبي باستخدام الماء المقطر.

١-١-١٢-البيلة الألبومينية الزهيدة:

يرتص الألبومين في البول مع حبيبات اللاتكس المغطاة بأضداد الألبومين البشري و يعتبر تراص الحبيبات متناسباً طردياً مع تركيز الألبومين و تتم معايرته بالطريقة العكرية. اعتبرت مستويات > ٢٠ مغ/لتر شاذة وفقاً لمعايير منظمة الصحة العالمية ٢٠٠٢ (١٧٩).

١-١-١٣-الببتيد - c:

تعتمد المعايرة على مبدأ المقايسة المناعية الومضانية (مبدأ الشطيرة) حيث يستخدم هنا نوعان من الأضداد أحادية النسيلة عالية النوعية وذلك لتغليف الحبيبات المغناطيسية و القائِفَة Tracer. تم تقييس معايرة الاختبار باستخدام عياري مرجعي عالمي ($NIBS1^{ST}$ IRR ٨١٠١٨٤). قام جهاز LIAISON بحساب تراكيز الببتيد– c تلقائياً لكل عينة بالمقارنة مع مخطط المعايرة وتم التعبير عن النتائج بالنانوغرام/مل . اعتمدت القيمة الطبيعية ٠.٨ – ٤.٢ نانوغرام /مل في دراستنا.

تم استخدام الكواشف التالية في المعايرة:

- معلق الحبيبات المغناطيسية المغلفة بأضداد الببتيد–c (أضداد أحادية النسيلة فئرية).
- مُعَيِّر منخفض
- مُعَيِّر مرتفع
- محلول قائِفَة : أضداد ببتيد–c موسومة بإيزولامنيوم (أضداد أحادية النسيلة فئرية).
- محلول ممدد

٢-العتائد و الطرائق المخبرية المناعية النوعية

تمت معايرة الأضداد الذاتية GAD65 و ICA و IA2 و IA بالمقايسة المناعية الإنزيمية (شركة MEDIPAN) و تم إجراء عينات شاهد منخفض و مرتفع أثناء إجراء المعايرات (جدول ١٣) و ذلك لضبط النتائج. صناعياً تمت معايرة اختبار كل من أضداد GAD65 و IA2 مقابل مواد مرجعية من منظمة الصحة العالمية 97/550 و أعطيت تراكيز النتائج بالوحدة الدولية/ مل بينما تمت معايرة أضداد IA على نحو مصنعي و أعطيت تراكيز النتائج بالوحدة/ مل. تم تفسير النتائج بالنسبة لأضداد ICA بحساب مَنْسَب الارتباط Binding Index (الامتصاص الضوئي للعينة/ الامتصاص الضوئي لعينة الشاهد). أجريت كافة المعايرات على جهاز المقايسة المناعية نوع DiaMed EuroGen .

جدول (١٣) العتائد المستخدمة في التحاليل المناعية النوعية

العتيدة	الرمز	العينة المطلوبة	عدد الشواهد	عدد العياريات
أضداد ICA	3804	مصل	٢	١
أضداد GAD	3802	مصل	٢	٥
أضداد IA	3806	مصل	١	٥
أضداد IA2	3803	مصل	٢	٤

أجريت القيم المرجعية للأضداد الذاتية المضادة للخلايا-β البنكرياسية في مجتمعنا على عينة أصحاء عدد ٤٨ شخصاً من كلا الجنسين (شريحة مئوية أكبر أو تساوي ٩٥%). تم تشخيص السكري المناعي الذاتي الخافِي عند البالغين بالاعتماد على الايجابية على الأقل لواحد من الأضداد الذاتية المذكورة في الجدول السابق.

٢-١-مبادئ معايرة الأضداد الذاتية المضادة للخلايا β البنكرياسية:

٢-١-١-أضداد GAD (GAD65):

تعتمد على المقايسة المناعية الإنزيمية وذلك لتحديد التركيز الكمي للأضداد الذاتية ضد أنزيم نازعة كربوكسيل حمض الغلوتاميك (GAD) في المصل البشري. يستخدم الاختبار قدرة أضداد GAD65 التي تعمل بشكل ثنائي التكافؤ لتشكل جسراً بين أنزيم GAD65 في الطور غير المتحرك (المغلف

لجدار الآبار) والطور السائل لبيوتين-GAD65. في المرحلة الأولى ترتبط أضداد GAD65 إلى مستضد GAD65 المغلف لآبار طبق المعايرة . بعد ذلك يرتبط مركب بيوتين- GAD65 إلى المعقد المتشكل حيث تتناسب كمية بيوتين- GAD65 إلى كمية أضداد GAD65 الموجودة في مصل المريض. تتم إزلة معقد بيوتين-GAD65 غير المرتبط بعملية الغسل وتتم معايرة البيوتين-GAD65 المرتبط بإضافة أوكسيداز-ستربتافيدين و ركازة ملونة (TMB) حيث يقرأ الامتصاص الضوئي على الموجة ٤٥٠ نانومتر.

٢-١-٢-أضداد ICA :

تعتمد على المقايسة المناعية الإنزيمية للتحديد نصف الكمي لأضداد ICA في المصل البشري. يستخدم الاختبار قدرة أضداد ICA الذاتية للعمل بشكل ثنائي التكافؤ لتشكل جسراً بين المستضدات الذاتية (المواد المنقاة بشكل كبير من مصدر المُقَدَّمات/ أعلى رتب الثديات) المغلفة لسطح الآبار والمستضدات الذاتية-بيوتين في الطور السائل. في المرحلة الأولى ترتبط أضداد ICA الذاتية الموجودة في عينة المريض إلى المستضدات الذاتية المغلفة لآبار طبق المعايرة. في المرحلة اللاحقة يرتبط المستضد الذاتي IC- بيوتين إلى المعقد السابق بشكل يتناسب مع كمية أضداد ICA الذاتية في مصل المريض . تتم إزالة المستضد الذاتي IC- بيوتين غير المرتبط بعملية الغسل. تتم معايرة المستضد الذاتي IC- بيوتين بعد اضافة بيروكسيداز-ستربتافيدين وركازة ملونة (TMB) و تقرأ الامتصاصات من الموجة ٤٥٠ نانومتر.

٢-١-٣-أضداد الأنسولين IA:

تعتمد المعايرة على المقايسة المناعية الإنزيمية للتحديد الكمي لأضداد الأنسولين في المصل البشري. في المرحلة الأولى ترتبط عينات المصل الحاوية على أضداد IA إلى الأنسولين المأشوب البشري المغلف لأبار طبق المعايرة. بعد الحضن لمدة ٦٠ دقيقة في درجة ٣٧ مئوية يتم إزالة المكونات غير المرتبطة بعملية الغسل. في المرحلة التالية تتفاعل الأضداد المرتبطة مع أضداد IgG البشرية الموسومة بأنزيم بيروكسيداز نبات المِلْعَقِيَّة (HRP). يتم إزالة المقترنة conjugate غير المرتبطة بعد الحضن لمدة ١٥ دقيقة بالدرجة ٣٧ مئوية بعملية غسل أخرى. يقوم انزيم HRP بتحويل الركازة الملونة TMB المضافة في هذه المرحلة إلى لون أزرق. يتم إيقاف التفاعل بإضافة محلول حمضي بعد ١٥ دقيقة من الحضن بالدرجة ٣٧ مئوية وتتم قراءة الامتصاص بالموجة ٦٢٠/٤٥٠ نانومتر خلال ٣٠ دقيقة بالحد الأقصى. تعتبر الامتصاصات الضوئية الناتجة متناسبة طرداً مع كمية أضداد IA الجائلة في الدم.

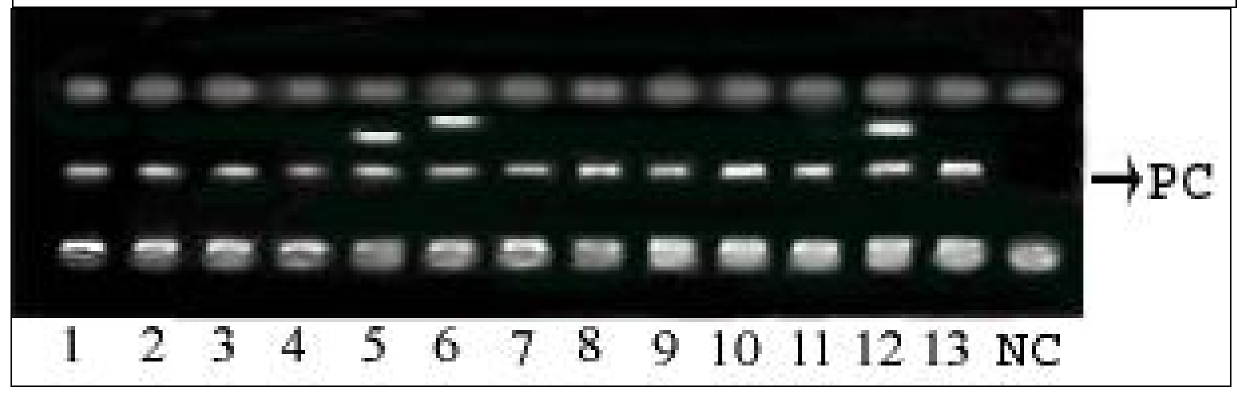
٢-١-٤-أضداد IA2:

تعتمد المعايرة على المقايسة المناعية الإنزيمية للتحديد الكمي لأضداد IA2 الذاتية في المصل البشري. يستخدم الاختبار إمكانية أضداد IA2 للعمل بشكل ثنائي التكافؤ لتشكيل جسر بين مستضد IA2 في الطور الثابت (المغلف للآبار) و مستضد IA2− بيوتين في الطور السائل. في المرحلة الأولى ترتبط أضداد IA2 في العينة المرضية إلى مستضد IA2 المغلف لآبار طبق المعايرة. في المرحلة الثابتة يرتبط مستضد IA2 − بيوتين إلى المعقد المتشكل في المرحلة الأولى . تتناسب كمية مستضد IA2− بيوتين مع كمية أضداد IA2 الموجودة في عينة المريض. يتم التخلص من مستضد IA2− بيوتين غير المرتبط بوساطة عملية الغسل. تتم معايرة مستضد IA2 −بيوتين المرتبط بإضافة بيروكسيداز−ستربتافيدين و ركازة ملونة (TMB) وتقرأ نتائج الامتصاصات الضوئية على الموجة ٤٥٠ نانومتر.

٣-العتائد و الطرائق المستخدمة في التنميط الوراثي لألائل HLA-DQB1

أولاً أجري استخلاص الـ DNA من عينات بلازما EDTA باستخدام عَتيدَة ®Nucleo Spin Blood (شركة MACHERY-NAGEL GmbH) و من ثم أجري التنميط الوراثي لألائل DQB1 بوساطة عتيدة HLA-DQB1 SSP منخفضة التمثيل (المصنعة في برنامج الطعوم التعاونية CTS في جامعة هايدلبرغ/ ألمانيا/ رمز ١١٩) و تم إجراء الرحلان الكهربي على هلامة الآغاروز (٢%). اشتملت الطريقة المستخدمة على عينة شاهد ايجابي و سلبي من ضمن العتيدة (شكل ٩). استخدام أنزيم بُوليميراز الـ DNA المأشوب (Taq DNA polymerase) المصنع في شركة Fermentas (رمز /EP0402) وفقاً للإجراءات المطلوبة و المنصوح بها في العتيدة المستخدمة و تم تفسير النتائج بالاعتماد على الجدول المرفق مع العتيدة. تم استخدام سلم DNA ١٠٠ زوج قاعدي GeneRuler (Fermentas/رمز ٤١٤٥٥) أثناء الرحلان على هلامة الآغاروز.

الشكل (٩) التنميط الوراثي بطريقة SSP منخفضة التمثيل لألائل HLA-DQB1 باستخدام الرحلان الكهربي على هلامة الآغاروز (٢%). يظهر الشكل النمط الوراثي DQB1 0201/*0301* و تبدي الأرقام ١ إلى ١٣ خلائط من مرئسات primers محددة لنوع الأليل. يدل الرمز NC على موضع عينة الشاهد السلبي و الرمز PC على شَريط الشاهد الايجابي.



٣-١-١-استخلاص عينات الـ DNA:

تم استخلاص الـــ DNA مباشرة من عينات الدم الوريدية الطازجة المأخوذة أنبوب الإيديتات EDTA ١٠ مل باستخدام عَتيدَة Nucleo Spin® Blood (MACHERY-NAGEL GmbH).

مكونات عَتِيدة Nucleo Spin® Blood:

- دارِئَة B1 (١٠) مل
- دارِئَة B2 (2.5) مل
- دارِئَة غسل B5 (٧) مل
- دارِئَة غسل BW (٣٠) مل
- دارِئَة شطف BE (١٣) مل
- بروتيناز K (مجفد) ٣٠ مع
- دارِئَة بروتيناز PB ١.٨ مل
- أعمدة Nucleo Spin® Blood (حلقات حمراء – بالإضافة لأنابيب جمع) عدد ٥٠
- أعمدة جمع ٢ مل عدد ١٠٠

٣-١-٢-إجراءات عزل و تنقية الـ DNA:

بدايةً يوضع المحم المائي على درجة ٧٠ مئوية و تتم موازنة دارِئَة BE بدرجة ٧٠ مئوية و تحضر الدَوارِئ B3 و B5 ومحلول البروتيناز K. بعد ذلك يتم حل عينات الدم بإضافة ٢٠٠ ميكروليتر من الدم من طبقة الغِلاَلَةُ الشَّهْباء buffy coat إلى ٢٥ ميكرو ليتر من البروتيناز K و ٢٠٠ ميكروليتر من دارِئَة حل B3 حيث تمزج جيداً لمدة ١٠ – ٢٠ دقيقة و تحضن العينات بدرجة ٧٠ مئوية لمدة (١٠ – ٢٠) دقيقة للحصول على الحلالة المطلوبة. بعدها تعدل ظروف ربط الــ DNA بإضافة ٢١٠ ميكروليتر ايتانول (٩٦–١٠٠ %) لكل عينة وتمزج جيداً . بعد ذلك يتم ربط الـــ DNA باستخدام عمود Nucleo Spin® Blood و أنبوب الجمع و تحمّل العينة و تنبذ لمدة دقيقة بقوة ١١.٠٠٠ دورة و في حال عدم نفوذ العينة بشكل كامل عبر غشاء السيليكا يعاد التنبيذ ثانية بقوة أعلى (<١٥٠٠٠ دورة). أخيراً يرمى العمود بعد التنبيذ و يغسل غشاء السيليكا بوضع عمود Nucleo Spin® Blood في انبوب جمع ثاني (سعة ٢ مل) ويضاف ٥٠٠ ميكروليتر دارِئَة BW و ينبذ لمدة دقيقة بسرعة ١١٠٠٠ دورة. يرمى أنبوب الجمع بعد الانتهاء و يغسل الغشاء ثانية باستخدام أنبوب جمع آخر (سعة ٢ مل) حيث يضاف ٦٠٠ ميكروليتر دارِئَة B5 و ينبذ دقيقة بسرعة ١١.٠٠٠ دورة وترمى المواد الناتجة بالعمود. يجفف غشاء السيليكا لاحقاً بإعادة تنبذي العمود وهو

بداخل أنبوب التجميع السابق لمدة دقيقة بسرعة ١١.٠٠٠ دورة و أخيراً يشطف الــ DNA عالي النقاوة بوضع عمود Nucleo Spin® Blood في أنبوب ١.٥ مل و بإضافة ١٠٠ ميكروليتر من دارِئَة الشطف BE المدفئة بشكل مسبق (٧٠ درجة مئوية) بعد حضن العمود لمدة دقيقة بدرجة حرارة الغرفة و إجراء التنبيذ لمدة دقيقة بسرعة ١١.٠٠٠ دورة.

٣-١-٣-قياس تركيز و نقاوة الـ DNA باستخدام مقياس الطيف الضوئي:

يعتمد حساب تركيز الأحماض النووية بتحويل نتيجة امتصاص قياس الطيف الضوئي على الموجة ٢٦٠ نانومتر (A_{260}) إلى تركيز بالميكروغرام / مل حسب الجدول التالي:

وحدة امتصاص A_{260}	تركيز (ميكروغرام / مل)
DNA ثنائي الطاق	٥٠
DNA أحادي الطاق	٣٣
RNA	٤٠
قليل النوكليونيد	٢٠- ٣٠

- *هذا الجدول ساري المفعول فقط للقياسات الحاصلة على باهاء متعادل ومعتمدة على طول مسار ١ سم عياري.*

تم حساب تراكيز DNA ثنائي الطاق في بحثنا وفق المعادلة التالية:

(تركيز DNA ثنائي الطاق = عامل تمديد العينة × امتصاص A_{260} × ٥٠)

في المعايرات تم استخدام كفيت كوارتز بعد تمديد العينات بدارئة متعادلة لقياس التراكيز و تم تحديد نقاوة العينات بدراسة نسبة الامتصاص بالموجة ٢٦٠ نانومتر (A_{260}) على الامتصاص بالموجة ٢٨٠ نانومتر (A_{280}) و اعتبرت نسبة ١.٨ إلى ٢ بأن العينة خالية من البروتين . كذلك تم الترحيل على هلامة الآغاروز(١.٢%) بالمقارنة مع سلم وزني لتحديد الكم و النقاوة التقريبية.

٣-١-٤-بوليميراز DNA Taq:

يستخلص أنزيم بوليميراز DNA Taq من جرثوم Thermus aquaticus المتحمل للحرارة و يعتبر الانزيم متحملاً للحرارة بدرجة عالية. يحفز الأنزيم تخليق DNA `5 ← `٣ ولا يحتوي على فعالية اكسونوكلياز `٣ ←`5 (تصحيح الانتساخ) بينما يمتلك فعالية اكسونوكلياز `5 ← `٣ منخفضة.

كذلك يعرض انزيم بوليميراز DNA Taq فعالية ترانسفيراز ديوكسي نوكليوتيدل والتي تؤدي بشكل متواتر إلى اضافة أدنين في النهاية – ٣` لمنتجات PCR.

في PCR روتيني يطبق بوليميزاز DNA Taq في التضخيم شدف DNA حتى حجم ٥ كيلو قاعدة أو توليد منتج PCR لتنسيل TA أو وسم DNA أو استنساخ DNA.

٣-١-٥-سلم DNA **١٠٠ زوج قاعدي** GeneRuler:

تم تصميم سلم DNA ١٠٠ زوج قاعدي من أجل تحديد الحجم والكم التقريبي لشدف DNA ثنائية الطيقان المتنوعة على هلامات الآغاروز و البولي أكريالاميد .

يتألف السلم من عشر شدف DNA خاصة منتقاة بوساطة الإستشراب (بمعدل زوج قاعدي) على النحو التالي: ١٠٠٠ ،٩٠٠ ، ٨٠٠ ، ٧٠٠ ، ٦٠٠ ، ٥٠٠ ، ٤٠٠ ، ٣٠٠ ، ٢٠٠ ، ١٠٠

يحتوي السلم على شريط مرجعي (٥٠٠ زوج قاعدي) يتلون بلون آخر وذلك لسهولة تفسير النتائج.

يتم تحضير السلم بحله بوساطة دارئة TE (10 mM Tris-HCl (pH 7.6) و 1 mM EDTA).

يوجد مع العتيدة صباغ خاص لتحميل الــ DNA .

٣-٢-التنميط الوراثي لألائل DQB1 باستخدام عتيدة HLA–DQB1 منخفضة التمثيل:

تم تحديث هذه العتيدة لتشمل كل آلائل HLA-DQB1 المنمطة حديثاً على قاعدة بيانات IMGT/HLA حتى تاريخ كانون الثاني عام ٢٠٠٧.

٣-٢-١-مكونات العتيدة:

١- خلائط مشرعات (Primers) PCR لكل اختبار عدد ١٤ (مؤلفة من ١٣ خليط من خلائط نوعية خاصة بالأليل وخليط خاص بالشاهد السلبي) توزع خلائط مشرعات PCR ضمن أبار طبق عمل PCR بشكل مجفد.

٢- درائة PCR: ٣ مل من ٥% خليط مواد PCR بدون أنزيم بوليميراز DNA Taq.

٣-٢-٢-مبدأ الطريقة:

تتضمن العملية على مزج دارئة التفاعل (Mastermix) مع عينة DNA البشرية المعزولة سابقاً. بعدها يتم توزيع الدارئة في آبار طبق التفاعل الحاوية على مزيج مشرعات لتحديد ألائل DQB1 . في المرحلة اللاحقة تغلق الآبار بالأغطية وبعدها توضع على جهاز الدوران الحراري Thermal Cycler وذلك لإجراء عملية تضخيم الــ DNA لتحديد الألائل. بعد ذلك يتم تحميل ناتج PCR على

هلامة آغاروز (٢%) من أجل الرحلان الكهربي. يتم تلوين الهلامة بالاثيديوم بروميد بعد الرحلان الكهربي ومن ثم توضع على جهاز تصوير UV لأخذ صور لهلامة الآغاروز ومن ثم ليصار لتفسير الأشرطة الناتجة عن عملية الرحلان وفقاً لجدول معين ملحق مع عتيدة التحليل . يتم إجراء التحليل خلال ساعة ونصف بعد عزل عينة DNA و يحتوي طبق التفاعل على ٩٦ بئر تكفي لتحيد ألائل DQB1 لـــ ٦ عينات.

تم وصف مجموعات مشرعات المضخمة للآلائل بوساطة منظمة الصحة العالمية (http://www.anthonynolan.org.uk/HIG/index.html)

٣-٢-٣-بروتوكول PCR المستخدم في تنميط HLA-DQB1 المرفق مع العتيدة:

يحتاج كل تفاعل لعينة DNA ممددة بماء مقطر بوزن ١٠- ١٥ ميكروغرام لكل بئر تفاعل و يتكون التفاعل من المراحل التالية:

- **التَمَسُّخ الأولي:** ٩٤ درجة مئوية لمدة دقيقة.
- **التَمَسُّخ** : ٩٤ درجة مئوية لمدة ١٥ ثانية.
- **المطاوعة + التمديد** : ٩٥ درجة مئوية لمدة دقيقة /عشرة دورات.
- **التَمَسُّخ:** ٩٤ درجة مئوية لمدة ١٥ ثانية
- **المطاوعة:** ٦١ درجة مئوية لمدة ٥٠ ثانية
- **التمديد:** ٧٢ درجة مئوية لمدة ٣٠ ثانية
- **ايقاف التفاعل** : بالدرجة ٤ مئوية مدة ١٥ دقيقة.

٣-٢-٤-بروتوكول الرحلان الكهربي على هلامة الآغاروز:

تحضر هلامة الآغاروز (٢%) وذلك باستخدام دارئة TAE وبودرة آغاروز حيث توضع في فرن ميكروويف لمدة ثلاث دقائق و بعدها تبرد للدرجة ٦٠ مئوية وتصب في طبق الرحلان بعد وضع أمشاط الرحلان المناسبة لصنع الآبار المطلوبة لعملية الرحلان الكهربي. بعد الانتهاء من عملية تضخيم منتجات PCR ينقل ١٠ ميكروليتر و توضع على آبار الهلامة بعد إزالة الأمشاط و ذلك وفق ترتيب معين (حسب ارشادات العتيدة). بسبب احتواء العتيدة على ملون الكريزول الأحمر والغليسرول في الخليط لا توجد أي أهمية لاضافة أي دارئة تحميل إضافية لمنتجات PCR. يتم الرحلان لمدة ٢٠ دقيقة على ١٧٠ فولط (تقريباً ٤.٠ فولط / سم^{٢}) و بعد ذلك يوقف الرحلان وتوضع الهلامة على

مادة ايثديوم بروميد لمدة ٢٠ دقيقة وبعدها تنقل للقراءة على جهاز التسليط الضوئي UV (٣١٢ نانوميتر) وتؤخذ صور لتحليل النتائج وتوثيقها.

تحتوي العتيدة على شاهد سلبي في الخليط الأخير مع كل تحليل و يحتوي كل مزيج للمشرعات على شاهد أزواج مشرعات للتضخيم غير الأليلي لجين بروتين الطور الأرتكاسي (CRP) والذي ينتج أزواج قاعدية بطول ٤٤٠ في كل الآبار ويعتبر كشاهد ايجابي للعينة. يمكن كشف معظم المشاركات المتماثلة الزيجوت أو المتخالفة الزيجوت بهذا النظام و ذلك وفق النموذج الخاص الذي تعطيه على هلامة الآغاروز و الذي يتم تفسيره وفقاً للجدول الملحق مع العتيدة أو برنامج SCORE (www.ihwg.org) على الانترنت.

٤-الأجهزة المستخدمة:

١- ممصات ورؤوس ممصات (١-١٠ ميكروليتر و١٠٠-١٠ ميكروليتر و١٠٠-١٠٠٠ ميكروليتر).

٢- جهاز الدوران الحراري Thermal cycler (APOLLO ATC 401).

٣- مِنْبَذَة أنابيب (Hettich RotoFix32).

٤- جهاز رحلان كهربي (BIORAD AC3000).

٥- جهاز توثيق الهلامة يتألف من تسليط الومضاني UV (٣١٢ نانومتر) و آلة تصوير (UV Transilluminator Bio Doc-H™ System).

٦- مقياس طيف ضوئي (BioSystem BTS310).

٧- حاضنة حرارية أو محم مائي (GFL 1083).

٨- مِنْبَذَة مناسبة لأنابيب عزل الـ Nucleo Spin® DNA (Eppendorf 5415D).

٩- معدات الأمان المخبري (المعطف والكفوف المخبرية و النَظارات الواقية).

١٠- قارئ اليزا DiaMed EuroGen (DEE Read).

١١- غاسل اليزا DiaMed EuroGen (DEE Wash).

١٢- جهاز المعايرة الهرمونية (LIAISON).

١٣- جهاز التحليل الكيميائي الآلي (KONELAB).

١٤- ميزان حساس (Sartoriou GM612).

١٥- جهاز ميكروويف.

١٦- مجمدة (-٨٠ درجة مئوية).

١٧- جهاز رج دوراني مع مؤقت (GFL 3020).

ح-الدراسة الإحصائية

تم إعطاء النتائج كمتوسط حسابي ± الانحراف المعياري أو كعدد مرضى أو نسبة مئوية و تم دراسة الاختلاف بين مجموعة السكري نمط ٢ (أضداد GAD^-) و LADA (أضداد GAD^+) باستخدام اختبار ستيودنت t (المتحولات المستمرة) و اختبار $\chi 2$ (المتحولات ثُنائيِّة التَّفَرُّع) و أوجدنا قيمة p و اعتبرنا أنه لا يوجد اختلاف معتد (ns) عندما تكون قيمة p ≥ ٠.٠٥ . استخدم اختبار التباين باتجاه واحد (One way ANOVA) و من ثم اختبار أقل فرق معتد (Least Significant Difference) لإظهار الاختلاف في الببتيد-c و BMI بين مجموعة السكري نمط ٢ (أضداد GAD^-) ومرضى LADA مع أضداد GAD^+ ≤ ٥٠ وحدة دولية /مل ومرضى LADA مع أضداد GAD^+ > ٥٠ وحدة دولية /مل. بعد اعتبار ايجابية أياً من الأضداد الذاتية المضادة لخلايا β البنكرياسية نوعياً ومشخصاً للإصابة بـــ LADA تمت دراسة منسب الحساسية للأضداد الذاتية GAD و ICA و IA و IA2 لتشخيص LADA عند مرضى عينة الدراسة (المرضى السكريين المشخصين سابقاً كنمط ٢ و منخفضي تركيز ببتيد- c ≥ ١.٢ نانوغرام/مل). كذلك تمت الدراسة المقارنة لتكرارية ألائل HLA-DQB1 بين مجموعة LADA و السكري نمط ١ الكلاسيكي مع عينة الشاهد الطبيعي باستخدام اختبار $\chi 2$ و تم حساب معدل الأرجحية (OR) و مجال ثقة (٩٥%) للأنماط الوراثية للـــ DQB1 بالنسبة للمجموعتين المرضيتين بالمقارنة مع عينة الشاهد الطبيعي. اعتبرت قيمة p أقل من ٠.٠٥ مُعْتَدّة (Significant).

ط-دراسة النتائج

بناءَ على الايجابية لواحد من الأضداد الذاتية المضادة للخلايا-β البنكرياسية كواصم مناعي ذاتي (أضداد GAD أو ICA أو IA2 أو IA) تمت دراسة القيم المرجعية لهذه الأضداد في مجتمعنا عند عينة من الأشخاص الأصحاء (عدد= ٤٨) في اطار اعتماد العتبة الايجابية لكل من الأضداد الذاتية المضادة للخلايا β البنكرياسية كمشخص للإصابة المناعية الذاتية للخلايا β البنكرياسية و تأكيد تشخيص الإصابة بــ LADA و ذلك حسب الجدول التالي:

الإخْتِبَار	القيمة المرجعية لمجتمعنا	شَريحَةٌ مِئويَّة Percentile
أضداد GAD65	ايجابي ≤ ٥ وحدة دولية/ مل	%96.6
أضداد ICA	ايجابي ≤ ١ منسب ارتباط	%95
أضداد IA2	ايجابي ≤ 11.5 وحدة دولية/ مل	%95
أضداد IA	ايجابي ≤ ٢.٦ وحدة / مل	%95

من الناحية الوبائية أظهرت هذه الدراسة انتشار أضداد GAD^+ (LADA) في ٤٥ مريضاً (١٧.٧%) من أصل ٢٥٤ مريضاً سكرياً نمط ٢. يظهر الجدول 14 المقارنة السريرية لمرضى السكري مع أضداد GAD^+ (٤٥ مريضاً) مقابل مرضى السكري نمط ٢ مع أضداد GAD^- (٢٠٩ مريضاً) أنه لا توجد فروق معتدة فيما يتعلق بالملامح الشخصية و السريرية بما في ذلك الجنس والعمر عند التشخيص و القصة العائلية للسكري ومدة المرض باستثناء منسب كتلة الجسم BMI (كغ/م٢) الذي أظهر انخفاض معتد في مجموعة مرضى السكري مع أضداد GAD^+ (LADA) بالمقارنة مع مجموعة المرضى مع أضداد GAD^- (٢٧.٦ ± 4.8 مقابل ٢٩.٨ ± ٥.٩ ، قيمة p = ٠.٠٠٢). علاوة على ذلك ، لم يلاحظ أي فرق معتد فيما يتعلق بمعايير المتلازمة الاستقلابية والمضاعفات السريرية لسكري في كل من المجموعتين السابقتين (مجموعة مرضى مع أضداد GAD^+ مقابل المجموعة مع أضداد GAD^-) على الرغم من أن ارتفاع تواتر المتلازمة الاستقلابية و القصة العائلية لمرض السكري شكل أكثر من >٥٠ % في كلا المجموعتين.

جدول (١٤) الملامح الشخصية و السريرية و المضاعفات السكرية عند مرضى السكري نمط ٢
(أضداد GAD^-) **ضد مرضى** LADA (**أضداد** GAD^+)

المتحول	أضداد GAD^-	أضداد GAD^+	p
	٢٠٩ مريضاً	٤٥ مريضاً	
الجنس أنثى/ ذكر (%)	48.8/51.2	55.6/44.4	ns
العمر (سنة)	52.8±9.9	54.0±9.8	ns
مدة الإصابة (سنة)	8.1±7.1	9.9±6.7	ns
BMI (كغ/م٢)	29.8±5.9	27.6±4.8	0.02
القصة العائلية للسكري (%)	66	51.1	ns
اعتلال الأعصاب السكري (%)	39.7	44.4	ns
اعتلال الشبكية السكري (%)	17.7	15.5	ns
اعتلال الكلية السكري (%)	3.35	2.2	ns
فرط الضغط (%)	30.6	20	ns
المرض القلبي الوعائي (%)	12	17.7	ns
المرض الوعائي المحيطي (%)	3.35	0	ns
المتلازمة الإستقلابية (%)	64.6	62.2	ns

- *ns = غير معتد (non significant)*

أظهرت المقارنة للفحوص المخبرية الروتينية على المصل و البول (الجدول ١٥) اختلافات معتدة من حيث متحولات ضبط السكر مثل سكر الدم الصيامي و البِيلَة الغلُوكُوزِيَّة و البِيلة الكيتونية بين المجموعات المرضية (المجموعة ايجابية أضداد GAD^+ مقابل المجموعة سلبية أضداد GAD^-). شكلت نسبة سكر الدم الصيامي ارتفاعاً معتداً في مرضى مع أضداد GAD^+ (٢٢١.٦ ± ٧٧.٩) بالمقارنة مع مرضى سلبيي أضداد GAD^- (١٨٢ ± ٦٦.٧) مع قيمة p= ٠.٠٠٠١. كذلك أظهرت الاختبارات البولية كالبِيلَة الغلُوكُوزيَّة و البِيلَة الكيتونِية اختلافاً معتداً بين مجموعة المرضى إيجابيي أضداد GAD^+ مقابل المرضى سلبيي أضداد GAD^- مع قيم p = ٠.٠٢٥ و p >٠.٠٠٠٠١ على التوالي. بالنسبة للمتحولات التحليلية الأخرى لم يلاحظ أي فروقات معتدة فيما يتعلق بـــ HbA1c و الببتيد−c و الشحوم (الكولسترول الكلي، ثلاثي الغليسيريدات، HDL كولسترول، LDL كولسترول) بين الذكور والإناث في كلتا المجموعتين مع و بدون ايجابية لأضداد GAD .

جدول (١٥) التحاليل المخبرية الروتينية لمرضى السكري

نمط ٢ (أضداد GAD$^-$) **ضد مرضى** LADA (**أضداد** GAD$^+$)

المتحول		أضداد **GAD**$^-$	أضداد **GAD**$^+$	**p**
		٢٠٩ مريضاً	٤٥ مريضاً	
سكر الدم الصيامي (مغ/د.ل)		182±66.7	221.6±77.9	0.001
الهيموغلوبين السكري (%)		7.4±1.3	7.7±1.3	ns
ببتيد- c (نانوغرام/مل)		1.7±1.1	1.6±0.9	ns
كولسترول الكلي (مغ/د.ل)	**إناث**	223±49.3	228.3±51.7	ns
	ذكور	205.4±43.9	203.8±41.3	ns
ثلاثي الغليسيريدات (مغ/د.ل)	**إناث**	193.9±97.2	178.6±112	ns
	ذكور	181.7±123.3	185.1±122.1	ns
HDL كولسترول(مغ/د.ل)	**إناث**	38.1±11.2	42.6±16.21	ns
	ذكور	31.2±8.9	29.6±8.4	ns
LDL كولسترول (مغ/د.ل)	**إناث**	137.4±34.1	150.5±41.8	ns
	ذكور	134.1±39.7	136.1±36.6	ns
البول	**بروتين(%)**	8.6	8.9	ns
	سكر (%)	41.6	60	0.025
	كيتون (%)	3.8	22.2	<0.0001

○ *ns* = غير معتد *(non significant)*

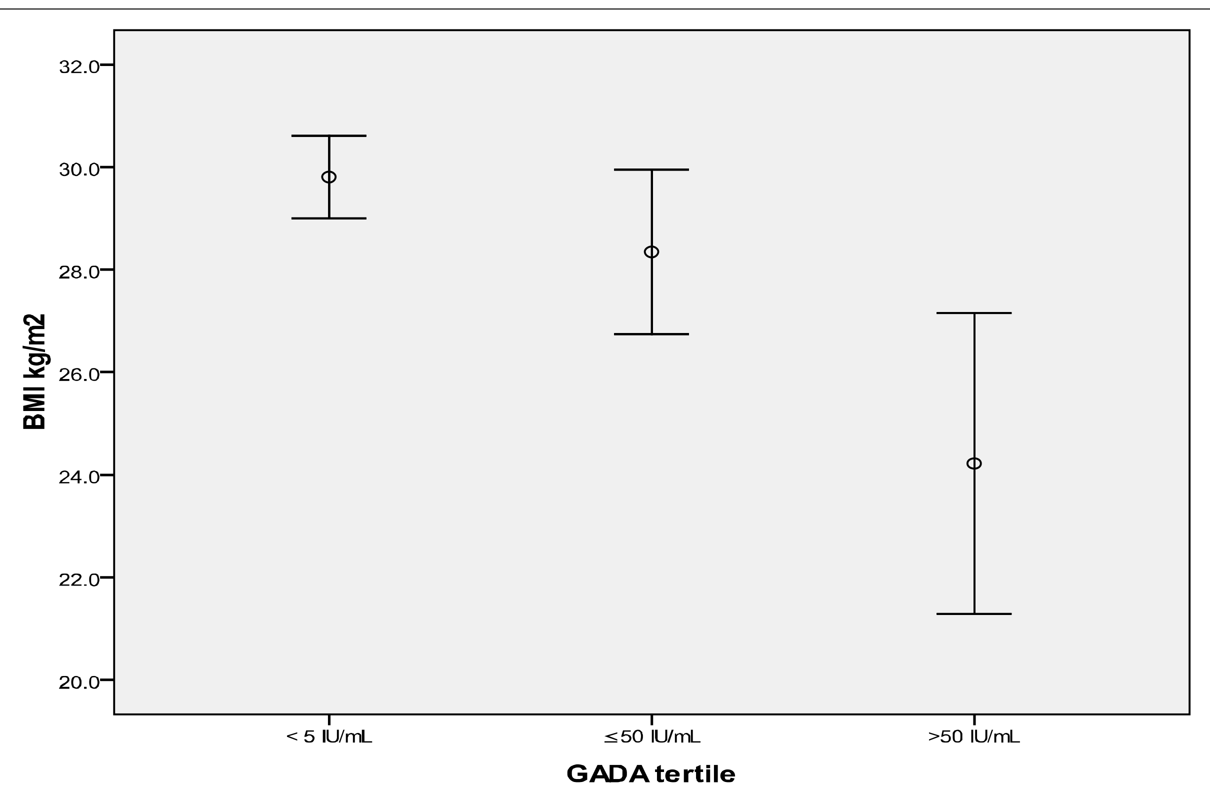
استناداً إلى مستويات أضداد GAD ، تم تقسيم عينة الدراسة إلى ثلاث شرائح مؤلفة من شريحة مرضى السكري نمط ٢ (أضداد GAD^- أقل من ٥ وحدة دولية / مل) و شريحة مرضى LADA مع أضداد GAD^+ ≤ ٥٠ وحدة دولية / مل و شريحة مرضى LADA مع أضداد GAD^+ > ٥٠ وحدة دولية / مل. يبين الشكل ١١ انخفاض معتد في تراكيز الببتيد–c بين الشرائح السابقة (اختبار One Way ANOVA قيمة p= ٠.٠٠٢) حيث لوحظ باستخدام اختبار أقل فرق معتد (Least Significant Difference) انخفاض معتد في تراكيز الببتيد–c عند شريحة السكريين مع أضداد GAD^+ > ٥٠ وحدة دولية / مل بالمقارنة مع شريحة مرضى السكري نمط ٢ و شريحة مرضى السكري أضداد GAD^+ ≤ ٥٠ وحدة دولية / مل.

شكل (١١) قيم ببتيد-c **(نانوغرام/مل)عند مرضى السكري نمط٢ (أضداد** GAD^-) **ومرضى** LADA **مع أضداد** GAD^+≤ **٥٠ وحدة دولية /مل و أضداد** GAD^+ > **٥٠ وحدة دولية /مل (مجال ثقة ٩٥٪)**



أيضاً ، يظهر الشكل ١٢ انخفاض معتد في منسب كتلة جسم (كغ/م٢) في شريحة مرضى مع أضداد GAD^+ > ٥٠ وحدة دولية / مل بالمقارنة مع تلك الموجودة في شريحة مرضى السكري نمط ٢ (قيمة p = ٠.٠١٢). رغم ذلك لم يرصد أية فروق معتدة بين شريحة مرضى مع أضداد GAD^+ ≤ ٥٠ وحدة دولية / مل و شريحتي مرضى السكري نمط ٢ و مرضى LADA مع أضداد GAD^+ > ٥٠ وحدة دولية / مل.

شكل (١٢) قيم منسب كتلة الجسم (كغ/م٢) عند مرضى السكري نمط ٢ (أضداد GAD^-) ومرضى LADA مع أضداد GAD^+ ≤ ٥٠ وحدة دولية /مل و أضداد GAD^+ >٥٠ وحدة دولية/مل (مجال ثقة ٩٥٪)



من بين ٧٠ مريضاً سكرياً مشخصين مبدئياً بالاصابة بالسكري نمط ٢ و لديهم تراكيز ببتيد-c ≥ ١.٢ نانوغرام/مل من كلا الجنسين تبين أن ٥٣ مريضاً (٢٨ ذكراً و ٢٥ أنثى) مصابين بـ LADA بناءً على نتائج الايجابية على الأقل لواحد من الأضداد الذاتية (أضداد GAD أو ICA أو IA2 أو IA) و ذلك بعد استبعاد المرضى المعالجين بالأنسولين و لديهم ايجابية لأضداد الأنسولين (أضداد IA) فقط. يوضَح الجدول ١٦ العدد و النسبة المئوية للأضداد الذاتية المضادة للخلايا الجزيرية البنكرياسية عند مرضى LADA مع تراكيز ببتيد-c ≥ ١.٢ نانوغرام/مل من كلا

الجنسين حيث لوحظ أن 54.7 % من المرضى لديهم ايجابية فقط لضد واحد (أضداد GAD أوICA أو IA2 أو IA) و34% من المرضى لديهم ايجابية لضدين بينما كان أقل من ١٢% من المرضى لديهم ثلاثة أضداد أو أربعة.

جدول (١٦) العدد والنسبة المئوية للأضداد الذاتية المضادة للخلايا الجزيرية البنكرياسية (أضداد GAD أو ICA أو IA2 أو IA) عند مرضى LADA و لديهم تراكيز ببتيد-c ≥ ١.٢ نانوغرام/مل من كلا الجنسين (٥٣ من أصل مريضاً)

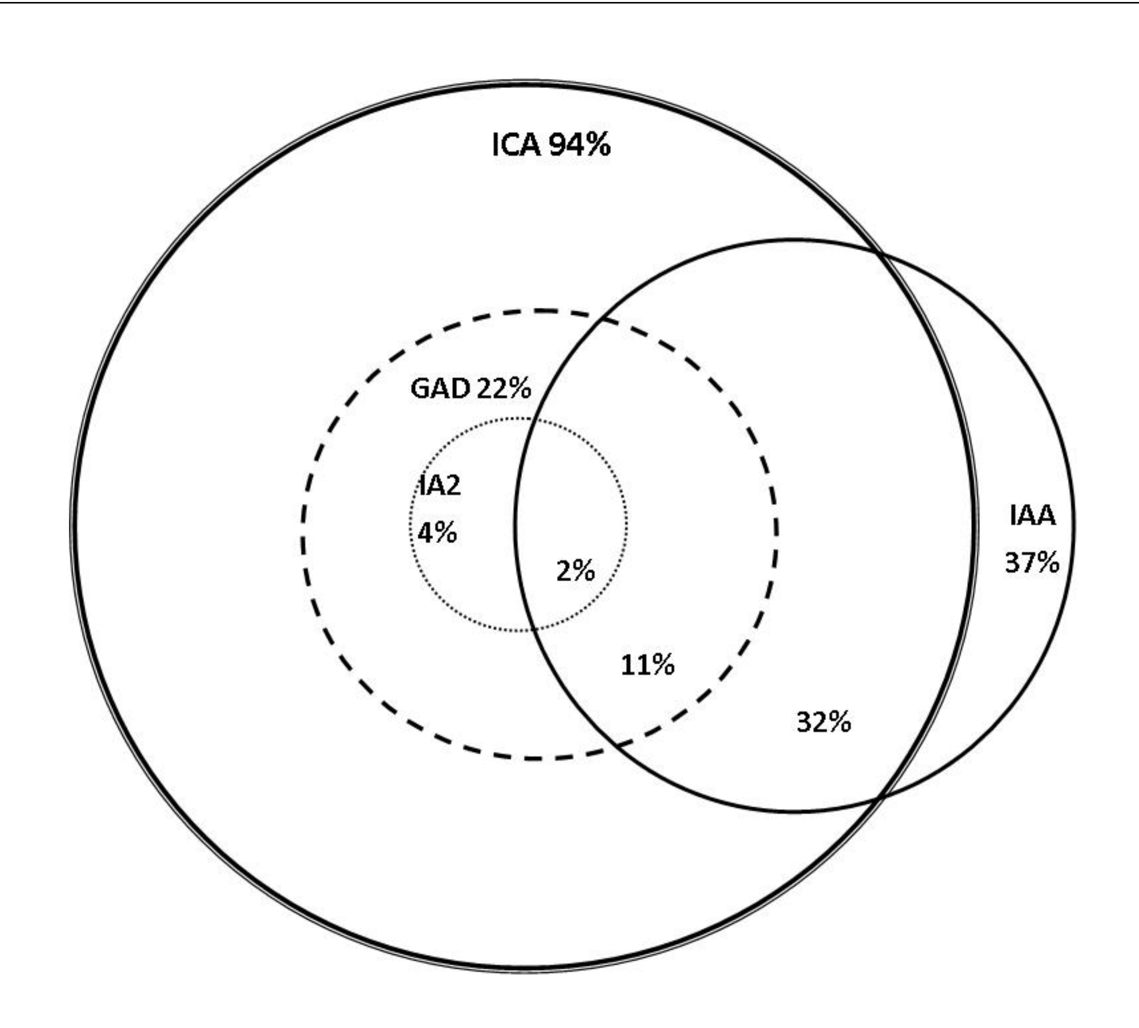
عدد الأضداد	المرضى ايجابيي الأضداد	النسبة المئوية
ضد واحد	*29*	*54.7%*
ضدان	*18*	*34%*
ثلاثة أضداد	*5*	*9.4%*
أربعة أضداد	*1*	*1.9%*

بالنسبة لدراسة أهمية الأضداد الذاتية المضادة للخلايا الجزيرية البنكرياسية تم تقييم منسب الحساسية المشخصة لــ LADA في منطقة اللاذقية و تمت دراسة الايجابية لكل من الأضداد GAD أو ICAأو IA2 أو IA على حدة و تمثيل التوزع و المشاركة بين الأضداد بالجدول ١٧ و مخطط Venn (الشكل ١٣) عند ٥٣ مصاباً بــ LADA من أصل ٧٠ مريضاً سكرياً نمط ٢. يظهر الجدول١٧ حساسية عالية لأضداد ICA بمقدار ٩٤% (٥٠ مصاباً) متبوعاً بحساسية ٣٧% (٢٠ مصاباً) و ٢٢% (١٢ مصاباً) و ٤% (٢ مصاباً) لكل من أضداد IA و GAD و IA2 على التوالي. أظهر كل الأشخاص ذوي الايجابية لأضداد GAD أو IA2 ايجابية متزامنة مع أضداد ICA أيضاً بينما تزامنت ايجابية أضداد IA (بعد استبعاد ٩ مرضى معالجين بالانسولين مع ايجابية لأضداد IA) مع أيجابية أضداد ICA عند ١٧ مريضاً من أصل ٢٠ مريضاً فيما أبدى ٣ مرضى ايجابية للأضداد IA فقط. كقيمة تشخيصة تغطي كل من أضداد ICA و أضداد IA كافة المرضى المصابين بــ LADA (٥٣ مريضاً سكرياً مشخصاً سابقاً بشكل خاطئ كنمط ٢) في هذه الشريحة من عينة الدراسة.

جدول (١٧) الحساسية و التوزع للأضداد الذاتية المضادة للخلايا الجزيرية البنكرياسية (أضداد GAD أو ICA أو IA2 أو IA) عند مرضى LADA و لديهم تراكيز ببتيد-c ≥ ١.٢ نانوغرام/مل من كلا الجنسين (هويضا ً)

الضد	المرضى ايجابيي الأضداد	منسب الحساسية
GAD	*12*	*%٢٢*
ICA	*50*	*94%*
IA2	*2*	*%٤*
IA	*20*	*%٣٧*
ICA و/ أو IA	*53*	*%١٠٠*

الشكل (**١٣**) يمثل مخطط Venn توزع الحساسية لكل من الأضداد الذاتية ICA^+ (الخط المضاعف) و أضدادGAD^+ (الخط المتقطع) و أضدادIA^+ (الخط المنقط) و أضداد $IA2^+$ (الخط الأحادي) عند المرضى المصابين بالسكري المناعي الذاتي الخافِي عند البالغين و عددهم ٥٣ مريضاً. هذا النتائج تنطبق فقط على المرضى السكريين المشخصين سابقاً كنمط ٢ و منخفضي ببتيد–c (≤ ١.٢ نانوغرام/مل). تم تمثيل نسبة التزامن مع أضداد IA^+ لكل من أضداد ICA^+ و GAD^+ و $IA2^+$ بنسبة ٣٢% و ١١% و ٢% على التوالي. تم تأكيد التشخيص بالإصابة بالسكري المناعي الذاتي في المجموعات المرضية بناء على الإيجابية على الأقل لواحد من الأضداد الذاتية المضادة للخلايا β البنكرياسية ICA أو GAD أو IA2 أو IA.



فيما يتعلق بدراسة الأنماط الوراثية HLA-DQB1 تم التركيز على الأنماط الوراثية المؤهبة و المحصّنة عند مرضى مجموعة LADA (١٦ مريضاً) و مجموعة السكري نمط ١ كلاسيكي (٢٤ مريضاً) بالمقارنة مع عينة الشاهد الطبيعي (١٤ مريضاً) المنتقاة وفق معطيات منظمة الصحة العالمية و الجمعية الأمريكية للداء السكري (٥٦-٥٧). تم التركيز على الأنماط الوراثية DQB1 0201/x* و 302/x* و 0201/*0302* (x = أي أليل DQB1 آخر مشارك) المؤهبة للسكري نمط ١ في هذه الدراسة.

يظهر الجدول ١٨ تزايداً معتداً في النمط الوراثي 302/x* (٥٦.٢٥ ضد ٧.١ % : p = 0.007) في مرضى LADA بالمقارنة مع عينة الشاهد الطبيعي. كذلك يوضح الجدول ١٨ ارتفاع معتد في تكرارية الأنماط الوراثية 0201/x* (٧٩.٢ ضد ٧.١ % : p=<0.0001) و 302/x* (٥٨.٣ ضد ٧.١ % : p = 0.002) و 0201/*0302* (٤٥.٨ ضد 0 % : p = ٠.٠٠٣) في مجموعة مرضى السكري نمط ١ الكلاسيكي بالمقارنة مع عينة الشاهد الطبيعي. في عينة الشاهد الطبيعي لوحظ ازدياد معتد في تكرارية النمط الوراثي 0601/x* بالمقارنة مع عينة السكري نمط ١ كلاسيكي (35.7 ضد ٠ %: p = 0.004) و لم تلاحظ أهميته المحصّنة عند مرضى LADA.

توضح النتائج الآلية المؤهبة للأنماط الوراثية الحاوية على الأليل 0201* عند مرضى السكري نمط ١ كلاسيكي (معدل أرجحية= ٤٩.٤ : ٩٥% مجال ثقة {٥.١ – ٤٧٣.٤}) و للأنماط الوراثية الحاوية على ألائل 0302* عند كل من مرضى LADA (معدل أرجحية=١٦.٧: ٩٥% مجال ثقة {١٦٠.٣– ١.٧}) و السكري نمط ١ كلاسيكي (معدل أرجحية= ١٨.٢ : ٩٥% مجال ثقة {٢– ١٦٢.٦}) بينما تشكل الأنماط الوراثية 0601/x* الحاوية على أليل 0601* عامل تحصّين عند مرضى السكري نمط ١ كلاسيكي (p=٠.٠٠٤) و لم تظهر أهميته المحصّنة عند مرضى LADA.

جدول (١٨) تكرارية الأنماط الوراثية للـ HLA-DQB1 في مرضى LADA و السكري نمط ١ كلاسيكي بالمقارنة مع عينة الشاهد الطبيعي

		LADA بالمقارنة مع عينة الشاهد			سكري نمط ١ بالمقارنة مع عينة الشاهد		
النمط الوراثي HLA-DQB1	LADA n (١٦)	p	معدل الأرجحية	سكري نمط ١ n (٢٤)	p	معدل الأرجحية	عينة الشاهد n (١٤)
*0201/x	% ٣٧.٥	0.086	(75.6 – ٠.٨)7.8	% ٧٩.٢	0.0001>	(473.4 –5.1) 49.4	% ٧.١
*0302/x	% ٥٦.٢٥	0.007	(160.3 –1.7)16.7	% ٥٨.٣	0.002	(162.6 –2.0) 18.2	% ٧.١
* 0201/*0302	% ١٢.٥	٠.٠٥	–	% ٤٥.٨	٠.٠٠٠٣	–	% ٠
*0601/x	% ١٢.٥	0.2	(0.04-1.6) 0.3	% 0	0.004	–	% 35.7

أعطيت النتائج كعدد مرضى (n) أو نسبة مئوية (%). ترمز علامة x في كل من 0201/x أو 0302/x* أو 0601/x عن أي أليل آخر مشارك. أعطي مجال ثقة (CI) ٩٥% بالنسبة معدل الأرجحية (OR).*

المناقشة

وبائياً أظهرت عدة دراسات عالمية مجراة على مرضى السكري نمط ٢ انتشاراً متفاوتاً للداء السكري المناعي الذاتي الخافِي عند البالغين بالاعتماد على ايجابية الأضداد الذاتية مثل أضداد GAD و/ أو أضداد ICA. أظهرت أكبر دراستين في أوروبا و أمريكا انتشار المرض عند أقل من ١٠% من المرضى المشخصين كسكري نمط ٢ (٨، ١٥) بينما لوحظ انتشاره بنسبة ١٦% في الصين (٣٨). أظهرت نتائج دراستنا استنادا إلى ايجابية أضداد GAD أن ١٧.٧ % من مرضى السكري نمط ٢ و الذين تتراوح أعمارهم بين ٣٥-٧٥ عاماً تم تشخيصهم كمرضى مصابين بـــ LADA. بالمقابل تم تصنيف نسبة كبيرة من مرضى السكري نمط ٢ مع تركيز ببتيد-c ≤ ١.٢ نانوغرام/مل (٥٣ مريضاً من أصل ٧٠) بشكل خاطئ كسكري نمط ٢ بينما هم بالواقع مرضى سكري مناعي ذاتي خافي مع ايجابية على الأقل لواحد من الأضداد الذاتية المضادة لمستضدات الخلية β البنكرياسية. أوضحت دراسة هذه الشريحة من المرضى أن تكرارية أضداد ICA أو IA عند هؤلاء المرضى كانت أعلى من تكرارية أضداد GAD أو IA2 و لوحظ أن النسبة العظمى من المرضى المصابين بـــ LADA (٥٠ مريضاً من أصل ٥٣) قد تم تشخيصهم بالاعتماد على أضداد ICA. لذلك تشكل دراسة انتشار المرض بالاعتماد على أضداد ICA أهمية كبيرة من حيث تحديد نسب انتشار المرض بالمقارنة مع أضداد GAD.

أكدت هذه الدراسة أن تصنيف LADA يعتمد على ايجابية أضداد الخلايا الجزيرية الذاتية بدلاً من المحاكمة السريرية في مجموعة من مرضى السكري نمط ٢ المشخصين بشكل خاطيء مسبقاً و ذلك بالتوافق مع تقارير منظمة الصحة العالمية والجمعية الأمريكية لمرضى السكري (٧، ٥٦).
من الناحية السريرية أظهرت هذه الدراسة تشابه الملامح السريرية بين مرضى LADA (ايجابيي أضداد GAD) مع مرضى السكري نمط ٢ (سلبيي أضداد GAD) و ذلك بدون وجود اختلافات معتدة من حيث الجنس والعمر عند التشخيص و القصة العائلية لمرض السكري ومدة الاصابة باستثناء منسب كتلة الجسم BMI . بالتوافق مع العديد من الدراسات السابقة (٦، ٨، ١٠-١١، ١٤، ٣٥، ٣٨) ، قدمت نتائج الدراسة مستويات منخفضة معتدة في منسب كتلة الجسم عند مرضى LADA مقابل مرضى السكري نمط ٢. أظهرت كلتا المجموعتين بعض الحالات المرضية المترافقة مع فرط الوزن أو السمنة و التي قد تكون على صلة بالانتشار المرتفع للسمنة عالمياً (٦٢). من جهة اخرى، أظهر مرضى الدراسة الذين يعانون من مستويات مرتفعة من أضداد GAD (> ٥٠ وحدة دولية / مل) منسب كتلة جسم منخفضاً بشكل معتد بالمقارنة مع مرضى السكري نمط ٢ بشكل مشابه لذلك

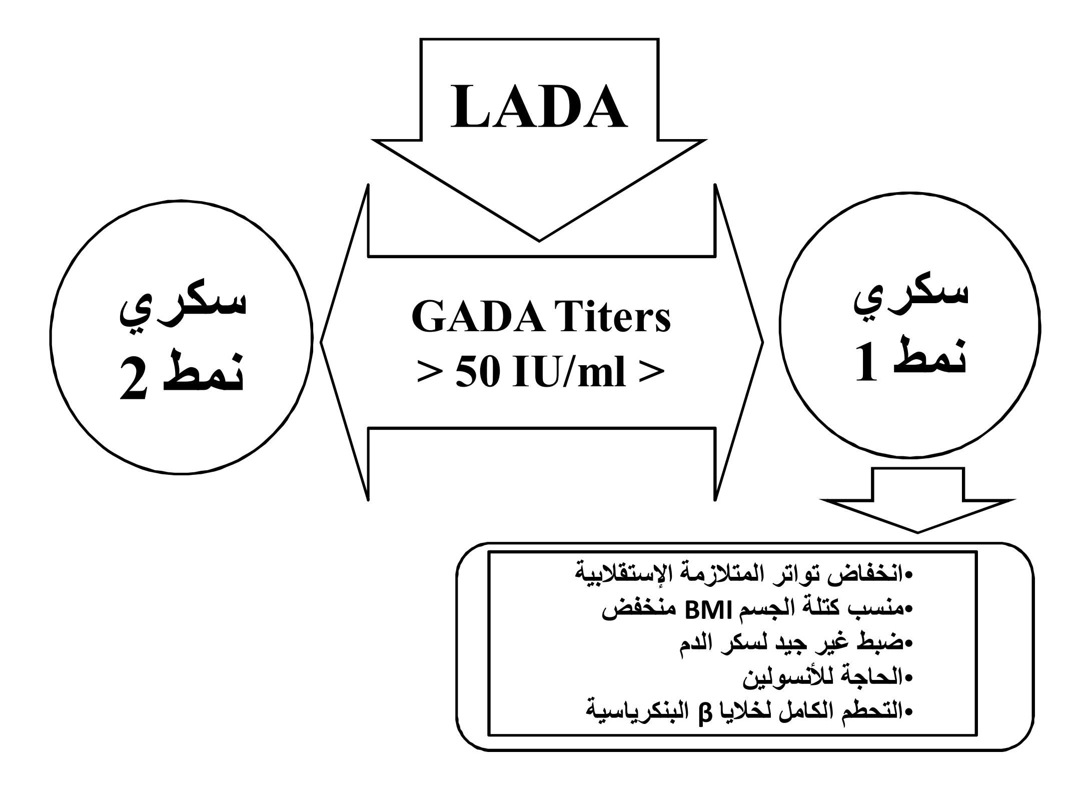
المشاهد في دراسات مقارنة اخرى على مرضى السكري نمط ١ كلاسيكي (١٠، ١٤، ٣٥-٣٧). أظهر Fourlanos وآخرون (١٨٠) أن استخدام منسب كتلة الجسم كمتحول لتحديد LADA أسفر عن حساسية بنسبة ٣٠ % بسبب معاناة مرضى LADA من فرط الوزن او السمنة.
أظهرت دراستنا بما يخص المضاعفات السريرية للسكري في مجموعة مرضى LADA (ايجابيي أضداد GAD) عدم وجود اختلافات معتدة بالمقارنة مع مجموعة مرضى السكري نمط ٢ (سلبيي أضداد GAD). أظهر Isomaa وزملاؤه (١٢) عدم وجود اختلافات معتدة بين مرضى LADA و السكري نمط ٢. أما من ناحية المتلازمة الاستقلابية، أظهرت نتائج الدراسة عدم وجود فوارق معتدة بين مرضى LADA و مرضى السكري من نمط ٢ (سلبيي أضداد) GAD و لكن عرض أكثر من ٥٠ % من المرضى في كلتا المجموعتين معايير المتلازمة الاستقلابية. بينما قدمت مجموعة المرضى مع تراكيز أضداد GAD > ٥٠ وحدة دولية / مل تواتر منخفض لمكونات المتلازمة الاستقلابية بالتوافق مع دراسات أخرى بهذا الشأن (١١-١٢، ٣٥، ٣٨، ٤٠). عرضت دراسات مختلفة (١١-١٢، ١٥، ١٨، ٣٥، ٣٨، ٤٠، 173) اختلاف حدوث المتلازمة الاستقلابية كانت مختلفة بشكل معتد في مرضى LADA بالمقارنة مع مرضى السكري نمط ٢ بغض النظر عن عيار أضداد GAD .

استقلابياً، قدم مرضى LADA بالمقارنة مع المصابين بالسكري نمط ٢ (سلبيي أضداد GAD) ضبط سكر سيء قدر بمستويات مرتفعة معتدة من سكر الدم الصيامي و البيلة السكرية و البيلة الكيتونية . عولج بعض هؤلاء المرضى بخافضات السكر الفموية لفترات زمنية طويلة بسبب التصنيف الخاطىء للمرض كسكري نمط ٢ . يتفق كثير من الباحثين على بدء المعالجة بالانسولين عند المرضى ايجابيي أضداد GAD (٨، ١١، ٢٧، ٣٦، ٤٠). كما لاحظ Turner وزملاؤه أن ما يقرب من ٥٠ % من مرضى LADA يحتاجون للانسولين بعد ٦ سنوات (٨) في حين أظهر آخرون أن الحصول على ضبط سكر أفضل يتم باعطاء الانسولين خلال ٢-٤ سنوات بعد تشخيص LADA (١٨١-١٨٢). استناداً إلى مستويات الببتيد-c عند مرضى LADA مع مستويات أضداد GAD^{+} >٥٠ وحدة دولية / مل ، عرضت البيانات انخفاضاً معتداً في مستويات الببتيد-c وأظهرت تدهوراً كاملاً في وظيفة الخلايا β الجزيرية بالمقارنة مع مرضى النمط ٢ و مرضى LADA ايجابيي أضداد GAD (≥ ٥٠ وحدة دولية / مل) الذين قدموا وظيفة خلايا β مصانة نسبياً على حد سواء. لذلك تشكل تراكيز الببتيد -c المنخفضة أو في الحد الأدنى للطبيعي(≥ ١.٢ نانوغرام/مل) مؤشراً تشخيصياً جيداً لتوقع حدوث الإصابة المناعية للخلايا الجزيرية البنكرياسية حيث أظهر المرضى ارتفاعاً في ايجابية الأضداد الذاتية ضد الجزيرات البنكرياسية في ٥٣ من أصل ٧٠ مريضاً سكرياً نمط ٢.

من الناحية التشخيصية، أظهرت الدراسة ارتفاعاً في تكرارية أضداد ICA و IA عند مجموعة مرضى LADA مع تراكيز ببتيد –c ≥ ١.٢ نانوغرام/مل بالمقارنة مع أضداد GAD و IA2 حيث تم تشخيص النسبة العظمى من المرضى المصابين بالسكري المناعي الذاتي الخافِي عند البالغين (٥٠ مريضاً من أصل ٥٣) بالاعتماد على أضداد ICA بالمقارنة مع ١٢ مريضاً ابدوا ايجابية لأضداد GAD بالتزامن مع ايجابية أضداد ICA. كذلك لوحظ تزامن ايجابية أضداد ICA عند مرضى LADA ليس فقط مع ايجابية أضداد GAD بل مع كلاً من أضداد IA2 و IA باستثناء ٣ مرضى أظهروا ايجابية فقط لأضداد الأنسولين IA. و بناءً على نتائج الدراسة اعتبرت أضداد ICA أولاً و من ثم أضداد IA كواصمات مناعية ذاتية ذات أهمية تشخيصية أكثر من أضداد GAD عند مرضى LADA. بالتوافق مع دراستنا أوضح Hosszufalusi و رفاقه أن تشخيص مرضى LADA يعتمد على الايجابية فقط لواحد من الأضداد الذاتية النوعية وعلى الخصوص أضداد ICA و بدرجة أقل أضداد GAD بينما رأى أن ايجابية أضداد IA2 قد تزامنت مع ايجابية الأضداد الأخرى مما جعلها ذات أهمية تشخيصية ضعيفة عند البالغين (١٠). أظهرت دراستنا أهمية تكرارية أضداد IA أكثر من أضداد GAD و أضداد IA2 في تشخيص مرضىLADA . اعتبرت دراسات أخرى أن كلاً من أضداد IA و IA2 كواصمات مهمة بالنسبة لتشخيص السكري نمط ١ عند الأطفال (١٣٩–141). في السابق أقترح Seissler و رفاقه انتشار أضداد GAD و IA2 بشكل أكبر عند مرضى السكري نمط ١ الكلاسيكي بعكس أضداد GAD و ICA الأكثر انتشارا عند LADA (34). أظهرت بعض الدراسات الأخرى اختلاف في نوعية حواتم epitopes أضداد GAD بين مرضى LADA و مرضى السكري نمط ١ (٨١، ١٣٢–١٣٣) بينما بينت دراسة أخرى اختلاف أضداد الصنف الفرعي GAD IgG بين مرضى LADA و السكري نمط ١ حيث لوحظ تكرارية أكبر لأضداد الصنف الفرعي IgG4 GAD عند مرضى LADA أكثر مما هو عليه عند مرضى السكري نمط ١ (١٣٤).

ظاهرياً، حددت تراكيز أضداد GAD بأن الملامح السريرية للسكري LADA تتراوح بين السكري نمط ١ و السكري نمط ٢ بالتوافق مع الدراسات العالمية الأخرى (١٤، ٣٨). اعتبرت تراكيز أضداد GAD > ٥٠ وحدة دولية/ مل نقطة حدية تجعل السكري LADA ممتداً بين السكري نمط ٢ و السكري نمط ١(شكل ١٤). أعطت تراكيز أضداد GAD > ٥٠ وحدة دولية/ مل ملامح تشخيصية متوافقة مع السكري نمط ١ من حيث انخفاض منسب كتلة الجسم و انخفاض في تواتر المتلازمة الاستقلابية و الحاجة الملحة للأنسولين بسبب الفشل الكلي في و ظيفة الخلايا β البنكرياسية (تراكيز ببتيد–c معدومة) و ضبط السكر السيء المتظاهر بارتفاع معتد في سكر الدم الصيامي و البيلة السكرية و البيلة الكيتونية.

شكل (١٤) تراكيز أضداد GAD > **٥٠ وحدة دولية/ مل كنقطة حدية لمعايير السكري** LADA



من الناحية الوراثية، ركزت عدة دراسات مساهمة عالمية عند مرضى السكري نمط ١ مثل مشروع DIAMOND (١٦٠) و دراسة DAISY (١٦٢) و دراسة DIPP (١٦٣) على التنوع العرقي و الجغرافي لتكرارية ألائل HLA-DQB1 عند مرضى السكري نمط ١ عند الأطفال ، بالمقابل لوحظ ندرة الدراسات التي تركز على مقارنة التنوع العرقي و الجغرافي عند مرضى LADA. حتى الآن لا توجد في سوريا دراسة بخصوص دراسة الأنماط الوراثية HLA-DQB1 المنتشرة عند مرضى LADA بالمقارنة مع تلك المنتشرة عند السكري نمط ١ كلاسيكي عند الأطفال.

بشكل عام أظهرت عدة دراسات مقارنة اختلاف الأنماط الفردانية و ألائل DQB1 المؤهبة للسكري نمط ١ بين الشرق (أغلب دول شرق آسيا ماعدا الصين) و الغرب (القوقازيين) (١٥٦، ١٥٩، ١٦٤–١٦٥). كما تم تقصي انتشار ألائل DQB1 المؤهبة للسكري نمط ١ المترافقة مع الأنماط الفردانية DR3 و DR4 حيث لوحظ انتشار ألائل DQB1 0302* و 0201* عند القوقازيين و ندرتها عند الآسيويين بينما لوحظ انتشار لألائل DQB1 0401* و 0303* المترافقة مع الأنماط الفردانية DR4 و DR9 عند الآسيويين كعوامل مؤهبة للمرض. بالمقابل لوحظ أهمية النمط الفرداني DR2 المترافق مع أليل DQB1 0602* كعامل تحصين من الإصابة بالسكري نمط ١.

أظهرت دراستنا على عينة مرضى السكري نمط ١ كلاسيكي تشابهاً مع عدة مجتمعات مدروسة غربية (القوقازيين) (١٥٢، ١٥٦، ١٦٤–165) و شرقية (الصينيين)(١٥٩) من ناحية انتشار الأنماط الوراثية المترافقة مع ألائل DQB1 المؤهبة للمرض حيث لوحظ انتشاراً معتداً في تكرارية الأنماط الوراثية الحاوية على الأئل 0302* و 0201* بالإضافة للنمط الوراثي 0302*/0201* عند مرضى السكري نمط ١ كلاسيكي بالمقارنة مع عينة الشاهد الطبيعي في مجتمعنا . في الدراسة التي أجريت في تونس (١٦٦) على عينات مرضى السكري نمط ١ كلاسيكي و التي تمثل ثلاث مجتمعات عربية هي البحرين و تونس و لبنان لوحظ أهمية الأنماط الفردانية الحاوية على الأئل DQB1 0201* في حدوث السكري نمط ١ عند كافة المجموعات المرضية بينما لوحظ أهمية الأنماط الفردانية الحاوية على ألائل DQB1 0302* في حدوث المرض فقط عند التونسيين.

أظهرت نتائج دراستنا عند مجموعة مرضى LADA ارتفاعاً معتداً في تكرارية ألائل DQB1 0302* كعوامل مؤهبة و لم يلاحظ أهمية معتدة للأليل DQB1 0201* عند هذه الشريحة من المرضى بالمقارنة مع عينة الشاهد الطبيعي. أظهرت دراستان سابقتان أن الأنماط الوراثية الحاوية على ألائل DQB1 0302* و 0201* بالإضافة للنمط الوراثي 0302*/0201* أكثر خطورة اتجاه الترقي السريع عند مرضى السكري نمط ١ مما هو عليه عند مرضى LADA (٢١، ١٥١) بينما أظهرت دراسات أخرى تشابهاً من حيث ارتفاع تكرارية الألائل عالية الخطورة المؤهبة للمرض DQB1 0201* و 0302* عند مرضى LADA مع ذلك المشاهد عند مرضى السكري نمط ١

بالمقارنةً مع عينة الشاهد أو السكري نمط ٢ (١١، ٤٤، ٤٧). بالمقابل أظهر Stenström تكرارية أقل لتلك الألائل المؤهبة عند مرضى LADA بالمقارنة مع السكري نمط ١ الكلاسيكي (٤٥).
من ناحية ألائل HLA DQB1 المحصّنة من الترقي للسكري المناعي الذاتي أظهرت عدة دراسات سابقة أهمية أليل 0602* في التحصين ضد السكري نمط ١ الكلاسيكي (١٤٩، ١٥٣، ١٥٥، ١٥٨–١٥٩، ١٦٦). اقترحت بعض الدراسات الأخرى ارتفاعاً في تكرارية أليل DQB1 0602* المحصّن عند مرضى LADA بالمقارنة مع السكري نمط ١ (١١، ٤٧) بينما أوضح Stenström عكس ذلك (٤٥). في دراستنا لم يلاحظ انتشار لأليل DQB1 0602* في كافة العينات المدروسة في مجتمعنا كعامل محصّن من السكري نمط ١ ولكن أظهرت دراستنا ارتفاعاً معتداً في تكرارية الأليل DQB1 0601* عند مجموعة الشاهد الطبيعي و اعتبر الأليل كعامل تحصّين من السكري نمط ١ الكلاسيكي بينما لم تلاحظ أهميته المحصّنة عند مرضى LADA في العينة المدروسة. أظهرت دراسة الباحثة Stayoussef و رفاقها (١٦٦) الأهمية المحصّنة للأنماط الفردانية الحاوية على ألائل DQB1 0601* عند اللبنانيين المصابين بالسكري نمط ١ بينما لوحظ أهمية ألائل 0501* عند البحرينيين. عالمياً على الرغم من التنوع في ألائل DQB1 المحصّنة من المرض وفقاً للأعراق و التوزع الجغرافي مثل 0602* و 0301* و 0402* و 0501* و 0503* (١٥٣، ١٥٥، ١٥٨–١٥٩) لوحظ انتشار أليل 0601* الموافق للأليل الموجود في مجتمعنا عند اللبنانيين (١٦٦) و التونسيين من أصول عربية (١٥٨) و الصينيين (١٥٩).

بالختام تظهر هذه الدراسة أن نسبة كبيرة من مرضى LADA (١٧.٧%) تم تصنيفهم في السابق كمرضى سكري نمط ٢ بناءً على معطياتهم السريرية. من الناحية الاستقصائية يعتبر استخدام كلاً من اختبار ببتيد–c والأضداد الذاتية المضادة لخلايا β البنكرياسية و خصوصاً أضداد ICA و IA معالم مهمة لتشخيص LADA بدلاً من الاعتماد على المعالم السريرية أو الحاجة للأنسولين فقط. من الناحية الوراثية، تظهر دراستنا أهمية ألائل DQB1 0302* و 0201* كعوامل مؤهبة للسكري نمط ١ الكلاسيكي و أليل 0601* كعامل محصّن من المرض بينما تبرز أهمية أليل 0302* فقط كعامل مؤهب عند مرضى LADA. لذلك تؤكد دراستنا أهمية ألائل DQB1 المؤهبة للمرض والتي تعكس ضرورة تطوير الاستشارة الوراثية للأشخاص المؤهبين للإصابة بالسكري نمط ١ في مجتمعنا بخصوص توقع إمكانية ترقي المرض عند الأطفال و البالغين وذلك لترشيحهم للعلاجات الوقائية المستقبلية الواعدة (١٧٦، ١٧٧).

التوصيات

وبائيا :

دراسة انتشار LADA في مجتمعنا بالاعتماد على ايجابية أضداد ICA كواصم مناعي ذاتي أكثر حساسية من أضداد GAD في تشخيص المرض.

سريريا :

* الوصول إلى إجماع على تسمية موحدة لمرض LADA.
* الوصول إلى معايير تشخيصية سريرية بسيطة لمساعدة الأطباء على تمييز LADA عن النمط ٢.
* تحري الأضداد الذاتية في مجتمعنا لدى الأشخاص العالي الخطورة.

مناعيا :

* تحري وجود أضداد ذاتية جديدة تستهدف الخلايا الجزيرية البنكرياسية عند مرضى LADA بالإضافة إلى الأضداد الذاتية المستخدمة حالياً.
* التركيز على تشخيص الإصابة بالسكري المناعي الذاتي في مجتمعنا بوساطة تحري أضداد ICA أولاً و من ثم أضداد الأنسولين.

استقلابيا :

مراقبة وتقييم وظيفة الخلية β عند مرضى LADA بوساطة معايرة ببتيد-c .

وراثيا :

* تحديد تواتر ألائل HLA الصنف II الأخرى المؤهبة عند مرضى LADA و مقارنتها مع تلك الموجودة في السكري نمط ١ كلاسيكي و السكري نمط ٢ .
* تطوير الاستشارة الوراثية للأشخاص المؤهبين للإصابة بالسكري نمط ١ و LADA في مجتمعنا بخصوص توقع إمكانية ترقي المرض عند الأطفال والبالغين وذلك لترشيحهم للعلاجات الوقائية المستقبلية الواعدة.

علاجيا :

* ترشيد الكادر الطبي في هذا المجال لمدى أهمية التحول للمعالجة للأنسولين باكراً عند مرضى النمط LADA بالاعتماد على قياس الأضداد الذاتية.

* تحديد فعالية الأنظمة العلاجية التقليدية (خافضات السكر الفموية والأنسولين) من حيث الحفاظ على وظيفة الخلية β البنكرياسية.

وقائياً :

يساعد توقع حدوث المرض بتحري الأضداد الذاتية المضادة للخلايا الجزيرية البنكرياسية و ألائل نظام HLA المؤهبة للمرض في مجتمعنا على تطبيق العلاج الوقائي مستقبلاً والذي يتم تطويره على شكل لقاح أو عن طريق إزالة أضداد GAD بوساطة الفلترة النوعية من قبل بعض الشركات العالمية.

ملخص البحث باللغة العربية

أهداف البحث : يهدف هذا البحث إلى تقييم الانتشار و الملامح السريرية و تواتر الواصمات المناعية الذاتية (أضداد GAD و ICA و IA2 و IA) و الأنماط الوراثية HLA-DQB1 عند مرضى السكري المناعي الذاتي الخافي عند البالغين (LADA) في مدينة اللاذقية–سوريا.

منهجية الدراسة وطرقها: بناء على ايجابية أضداد نازعة كربوكسيل حمض الغلوتاميك (أضداد GAD)، تمت دراسة مجموعة من ٢٥٤ مريض سكري نمط ٢ ذكوراً وإناثا تتراوح أعمارهم بين ٣٥–٧٥ سنة من حيث الخصائص السريرية والمخبرية. كذلك تم دراسة مجموعة من مرضى السكري نمط ٢ (٧٠ مريضاً) و لديهم تراكيز ببتيد–c ≤ ١.٢ نانوغرام/مل من حيث تواتر الواصمات المناعية الذاتية (أضداد GAD و ICA و IA2 و IA).

أيضاً تم تقييم مجموعة من مرضى LADA و مجموعة من مرضى السكري نمط ١ كلاسيكي من حيث توزع الأنماط الوراثية DQB1 المؤهبة و المحصّنة من المرض بالمقارنة مع عينة شاهد طبيعي.

النتائج :

أظهرت الدراسة ايجابية أضداد GAD (أضداد GAD^+) عند ٤٥ مريضاً سكرياً (LADA) بالمقارنة مع ٢٠٩ مريضاً سكرياً كانوا سلبيي أضداد GAD (أضداد GAD^-). في كلتا المجموعتين (مجموعة مرضى LADA و مجموعة مرضى السكري نمط ٢) لم يلاحظ أي فروق معتدة بما يخص الملامح السريرية باستثناء منسب كتلة الجسم الذي أظهر انخفاضاً معتداً عند مجموعة مرضى LADA (٢٧.٦ ± ٤.٨ مقابل ٢٩.٨ ± ٥.٩؛ p=٠.٠٠٢). عند مرضى LADA، لوحظ وجود ضبط سكر سيء بشكل معتد متمثلاً بسكر دم صباحي مرتفع (٢٢١.٦ ± ٧٧.٩ مقابل ١٨٢±٦٦.٧ ؛ p= ٠.٠٠١) و بيلة سكرية (٦٠% مقابل ٤١.٦%؛ p=٠.٠٢٥) و بيلة كيتونية (٢٢.٢% مقابل ٣.٨%؛ p <٠.٠٠٠١) بالمقارنة مع مرضى سكري نمط ٢ (أضداد GAD^-). بتقسيم العينة إلى ثلاث شرائح من مرضى سكري نمط ٢ (GAD^+ <٥ وحدة دولية / مل) و مرضى LADA مع أضداد GAD^+ ≤ ٥٠ وحدة دولية / مل و مرضى LADA مع أضداد GAD^+> ٥٠ وحدة دولية / مل، أظهرت شريحة مرضى LADA مع تراكيز أضداد GAD^+ > ٥٠ وحدة دولية/مل انخفاضاً معتداً في منسب كتلة الجسم (p = ٠.٠١٢) و مستويات ببتيد–c (p <٠.٠٠٢) بالمقارنة مع شريحة السكري نمط ٢ و شريحة مرضى LADA مع أضداد GAD^+ ≤ ٥٠ وحدة دولية/ مل.

بناءً على الإيجابية على الأقل لواحد من الأضداد الذاتية GADA و ICA و IA2 و IA جرى تحديد مرضى LADA. درست مجموعة من ٧٠ مريضاً سكرياً مشخصين مبدئياً كنمط ٢ و لديهم تراكيز

ببتيد- c ≥ ١.٢ نانوغرام/مل. تم تشخيص أغلبية المرضى (٥٣ من ٧٠ مريضاً) على أنهم مصابين بـــ LADA وجرى استبعاد المرضى المعالجين بالأنسولين اعتماداً على ايجابية أضداد الأنسولين IA. تشخيصياً، أظهرت أضداد ICA أعلى منسب حساسية بمقدار ٩٤% (٥٠ مصاباً) متبوعاً بحساسية ٣٧% (٢٠ مصاباً)، ٢٢% (١٢ مصاباً)، ٤% (٢ مصاباً) لكل من أضداد IA و GAD و IA2 على التوالي. أظهر كل الأشخاص ذوي الايجابية لأضداد GAD أو IA2 ايجابية متزامنة مع أضداد ICA أيضاً بينما تزامنت ايجابية أضداد IA مع ايجابية أضداد ICA عند ١٧ مريضاً من أصل ٢٠ فيما أبدى ٣ مرضى ايجابية على أضداد IA فقط. لذلك كقيمة تشخيصية يغطي كل من أضداد ICA و أضداد IA كافة المرضى المصابين بـــ LADA أي ٥٣ مريضاً سكرياً اعتبروا بالسابق كمرضى سكري نمط ٢.

من الناحية الوراثية، أظهرت الدراسة ارتفاعاً معتداً في النمط الوراثي HLA-DQB1 x/0302* المؤهب (x = تمثل أي أليل DQB1 آخر مشارك) عند مرضى LADA بالمقارنة مع مجموعة الشاهد الطبيعي (٥٦.٢٥ ضد ٧.١ % : قيمة P = 0.007). كذلك لوحظ ارتفاعاً معتداً في تكرارية الأنماط الوراثية عالية الخطورة x/0201* (٧٩.٢ ضد ٧.١ % : قيمة p = <0.0001) و x/0302* (٥٨.٣ ضد ٧.١ % : قيمة p = 0.002) و 0201/*0302* (٤٥.٨ ضد 0 % : قيمة p = ٠.٠٠٣) في عينة مرضى السكري نمط ١ كلاسيكي بالمقارنة مع عينة الشاهد الطبيعي بينما أظهرت النتائج أهمية النمط الوراثي x/ 0601* كعامل تحصّين معتد عند مجموعة الشاهد الطبيعي بالمقارنة مع عينة السكري نمط ١ كلاسيكي (35.7 ضد ٠ %: قيمة p = 0.004) و لم تلاحظ أهميته المحصّنة عند مرضى LADA.

الخاتمة: بالمجمل تم تحديد انتشار LADA بنسبة ١٧.٧ % من المرضى المشخصين سابقاً كسكري نمط ٢ في محافظة اللاذقية. أظهر مرضى LADA تشابهاً من الناحية السريرية و المخبرية مع مرضى السكري نمط ٢ باستثناء انخفاض منسب كتلة الجسم و ضبط السكر السيء. تشخيصياً، تظهر أضداد ICA و IA قيمة تشخيصية كبيرة في تحديد LADA عند مرضى السكري المصنفين كنمط ٢ مع ببتيد-c ≥ ١.٢ نانوغرام/مل. أوضحت الدراسة أهمية الأنماط الوراثية HLA-DQB1 الحاوية على ألائل 0201* و 0302* المؤهبة و أليل 0601* المحصّن في عينة مرضى السكري نمط ١ كلاسيكي بينما شكّلت الأنماط الوراثية الحاوية على ألائل 0302* عامل استعداد عند مرضى LADA.

ملخص البحث باللغة الانكليزية

Abstract

Objectives: This study aims to assess the perevalence, clinical characteristics, the frequency of islet β-cell autoimmune markers (ICA, GADA, IA-2, and IAA), and HLA-DQB1 genotypes association with latent autoimmune diabetes of adults (LADA) in the city of Latakia/ Syria.

Materials and Methods: Based on glutamic acid decarboxylase autoantibodies positivity, a population of 254 type 2 diabetics, males and females aged 35 to 75 years, were subdivided into $GADA^+$ (positive) and $GADA^-$ (negative) subgroups. Both subgroups ($GADA^+$ and $GADA^-$) were studied in terms of the clinical and laboratory characteristics. Also, a subgroup of type 2 diabetics (n=70) with c-peptide ≤1.2 ng/ml were studied in terms of the frequency of islet β-cell autoimmune markers (ICA, GADA, IA-2, and IAA). Moreover, LADA and type 1 diabetics (4-33 years) were evaluated in terms of susceptible and protective DQB1 genotypes in comparison with normal control.

Results: GADAs were positive ($GADA^+$) in 45 diabetic patients (LADA) versus 209 type 2 diabetics with GADA negative ($GADA^-$). In both subgroups, LADA and type 2, no significant differences were observed in terms of anthropometric and clinical features except for BMI which was significantly lower in $GADA^+$ subgroup (27.6±4.8 vs. 29.8±5.9; P= 0.02). Significant poor glycemic control was detected in terms of fasting blood sugar (FBS) (221.6±77.9 vs 182±66.7; P=0.001), glucosuria (60% vs. 41.6%; P=0.025), and ketonuria (22.2% vs. 3.8%; P<0.0001) in LADA patients ($GADA^+$) versus type 2 diabetics ($GADA^-$). By subdividing the studied sample into tertiles of type 2 diabetes ($GADA^-$ <5 IU/ml), LADA with $GADA^+$ ≤50 IU/ml, and LADA with $GADA^+$ >50 IU/ml, the tertile with high GADA titers (>50 IU/ml) presented significantly low BMI (P=0.012) and c-peptide levels (P<0.002) in comparison with type 2 diabetes and LADA with GADA≤ 50 IU/ml tertiles. Based on the positivity of at least one of the islet β-cell autoantibodies (ICA, GADA, IA-2, or IAA), LADA was identified. A subgroup of type 2 diabetic pateints (n=70) with c-peptide ≤1.2 ng/ml were studied. Patients with positive IAA, who were treated with insulin, were excluded. The majority of patients (53 out of 70 patients) were diagnosed as having autoimmune diabetes based on the positivity of ICA^+ (sensitivity 94%; n=50), IAA^+ (sensitivity 37%; n=20), $GADA^+$ (sensitivity 22%; n =12) and/or $IA2^+$ (sensitivity 4%; n=2). Both $GADA^+$ and $IA2^+$ patients were ICA^+ positive as well. In IAA^+ positive patients (n= 20), 3 subjects were diagnosed as having LADA based only on IAA positivity. Therefore, the frequency of positivity of both ICA^+ and IAA^+ covered all the studied group of LADA. As far as the HLA-DQB1 genotypes association with LADA is concerned , the results showed a significant increase in HLA-DQB1 *0302/x (x= any other associated DQB1 allele), susceptible genotype in

comparison with normal control group (٥٦.٢٥ vs. ٧.١ %; p=0.007). In classic type 1 diabetics, the frequency of high risk genotypes *0201/x (79.2 vs. 7.1%; p= < 0.0001), *0302/x (58.3 vs. 7.1%; p=0.002), and *0201/*0302 (45.8 vs. 0%; p=0.003) was significantly detected in comparison with the normal control group. The significance of *0601/x as a protective genotype was negatively associated with classic type 1 subjects but not with LADA patients.

Conclusion: Overall, in the city of Latakia, the prevalence of LADA was 17.7% in the studied type 2 diabetics. LADA patients showed similar laboratory and clinical features as type 2 diabetics with the exception of low BMI levels and poor glycemic control. Diagnostically, both ICA and IAA almost have 100% diagnostic value in identifying LADA in type 2 diabetics with c-peptide ≤1.2 ng/ml. The significance of HLA-DQB1 genotypes associated with susceptible alleles (*0201 and *0302) and protective one (*0601) was confirmed in classic type 1 diabetes group.Only *0302 susceptible allele was significantly increased in LADA.

المراجع

1. Irvine WJ, Gray RS, McCallum CJ, Duncan LJP: Clinical and pathogenic significance of pancreatic-islet-cell antibodies in diabetics treated with oral hypoglycemic agents. Lancet 1:1025–1027, 1977.
2. Kobayashi T, Sawano S, Sugimoto T, Itoh T, Kosaka K. Risk factors of slowly progressive insulin-dependent (type I) diabetes mellitus. J Steroid Biochem, 20:1488, 1984.
3. No authors listed. Insulin-dependent? Lancet; 2:809-10, 1985.
4. Groop LC, Bottazzo GF, Doniac D: Islet cell antibodies identify latent type 1 diabetes in patients aged 35–75 years at diagnosis. Diabetes 35:237–241, 1986.
5. Baekkeskov S, Aanstoot HJ, Christgau S, Reetz A, Solimena M, Cascalho M, Folli F, Richter-Olesen H, De Camilli P, Camilli PD. Identification of the 64K autoantigen in insulin-dependent diabetes as the GABA-synthesizing enzyme glutamic acid decarboxylase. Nature. 13; 347:151–156, 1990.
6. Tuomi T, Groop LC, Zimmet PZ, Rowley MJ, Knowles W, Mackay IR: Antibodies to glutamic acid decarboxylase reveal latent autoimmune diabetes mellitus in adults with a non-insulin-dependent onset of disease. Diabetes 42:359 –362, 1993.
7. The Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus: Report of the Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. Diabetes Care 20:1183–1197, 1997.
8. Turner R, Stratton I, Horton V, Manley S, Zimmet P, Mackay IR, Shattock M, Bottazzo GF, Holman R, for UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group: UKPDS 25: autoantibodies to islet-cell cytoplasm and

glutamic acid decarboxylase for prediction of insulin requirement in type 2 diabetes. Lancet 350:1288–1293, 1997.

9. Alberti KG, Zimmet PZ, for the WHO Consultation. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. I. Diagnosis and classification of diabetes mellitus: provisional report of a WHO Consultation. Diabet Med;15:539-553, 1998.

10. Hosszufalusi N, Vatay A, Rajczy K, Prohaszka Z, Pozsonyi E, Horvath L, Grosz A, Gero L, Madacsy L, Romics L, Karadi I, Fust G, Panczel P: Similar genetic features and different islet cell autoantibody pattern of latent autoimmune diabetes in adults (LADA) compared with adult-onset type 1 diabetes with rapid progression. Diabetes Care 26:452– 457, 2003.

11. Tuomi T, Carlsson A, Li H, Isomaa B, Miettinen A, Nilsson A, Nissen M, Ehrnstrom BO, Forsen B, Snickars B, Lahti K, Forsblom C, Saloranta C, Taskinen MR, Groop LC: Clinical and genetic characteristics of type 2 diabetes with and without GAD antibodies. Diabetes 48:150 –157, 1999.

12. Isomaa B, Almgren P, Henricsson M, Taskinen MR, Tuomi T, Groop L, et al. Chronic complications in patients with slowly progressing autoimmune type 1 diabetes (LADA). Diabetes Care; 22:1347-53, 1999.

13. Pozzilli P, Di Mario U: Autoimmune diabetes not requiring insulin at diagnosis (latent autoimmune diabetes of the adult): definition, characterization, and potential prevention. Diabetes Care 24:1460 -1467, 2001.

14. Lohmann T, Kellner K, Verlohren HJ, Krug J, Steindorf J, Scherbaum WA, Seissler J: Titre and combination of ICA and autoantibodies to glutamic acid decarboxylase discriminate two clinically distinct types of latent autoimmune diabetes in adults (LADA). Diabetologia 44:1005–1010, 2001.

15. Zinman B, Kahn SE, Haffner SM, O'Neill MC, Heise MA, Freed MI (ADOPT Study Group). Phenotypic characteristics of GAD antibody-

positive recently diagnosed patients with type 2 diabetes in North America and Europe. Diabetes 53:3193-3200, 2004.

16. Barinas-Mitchell E, Pietropaolo S, Zhang YJ, Henderson T, Trucco M, Kuller LH, Pietropaolo M. Islet cell autoimmunity in a triethnic adult population of the Third National Health and Nutrition Examination Survey. Diabetes.; 53:1293-302, 2004.
17. Stenström G, Gottsäter A, Bakhtadze E, Berger B, Sundkvist G. Latent autoimmune diabetes in adults: definition, prevalence, beta-cell function, and treatment. Diabetes.; 54 :68-72, 2005.
18. Römkens TE, Kusters GC, Netea MG, Netten PM. Prevalence and clinical characteristics of insulin-treated, anti-GAD-positive, type 2 diabetic subjects in an outpatient clinical department of a Dutch teaching hospital. Neth J Med. 64:114-118, 2006.
19. Fourlanos S, Dotta F, Greenbaum CJ, Palmer JP, Rolandsson O, Colman PG, Harrison LC: Latent autoimmune diabetes in adults (LADA) should be less latent. Diabetologia 48:2206–2212, 2005.
20. Bruno G, Runzo C, Cavallo-Perin P, Merletti F, Rivetti M, Pinach S, Novelli G, Trovati M, Cerutti F, Pagano G; Piedmont Study Group for Diabetes Epidemiology. Incidence of type 1 and type 2 diabetes in adults aged 30-49 years: the population-based registry in the province of Turin, Italy. Diabetes Care; 28(11):2613-2619, 2005.
21. Horton V, Stratton I, Bottazzo GF, et al. Genetic heterogeneity of autoimmune diabetes: age of presentation in adults is influenced by HLA DRB1 and DQB1 genotypes (UKPDS 43). UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group. Diabetologia 42 :608-616, 1999.
22. Rosário PW, Reis JS, Amim R, Fagundes TA, Calsolari MR, Silva SC, Purisch S..Comparison of Clinical and Laboratory Characteristics Between Adult-Onset Type 1 Diabetes and Latent Autoimmune Diabetes in Adults. Diabetes Care 28: 1803-1804, 2005.

23. Palmer JP, Hampe CS, Chiu H, Goel A, Brooks-Worrell BM. Is latent autoimmune diabetes in adults distinct from type 1 diabetes or just type 1 diabetes at an older age? Diabetes 54 :62–67, 2005
24. Gale EAM. Latent autoimmune diabetes in adults: a guide for the perplexed. Diabetologia 48:2195-9, 2005.
25. Groop L, Tuomi T, Rowley M, Zimmet P. Latent autoimmune diabetes in adults (LADA)- more than a name. Diabetologia 49:1996-1998, 2006.
26. David R, Leslie G, Williams R, Pozzilli P. Clinical Review: Type 1 Diabetes and Latent Autoimmune Diabetes in Adults: One End of the Rainbow. J Clin Endocrinol Metab. 91:1654-9, 2006.
27. Takeda H, Kawasaki E, Shimizu I, Konoue E, Fujiyama M, Murao S, Tanaka K, Mori K, Tarumi Y, Seto I, Fujii Y, Kato K, Kondo S, Takada Y, Kitsuki N, Kaino Y, Kida K, Hashimoto N, Yamane Y, Yamawaki T, Onuma H, Nishimiya T, Osawa H, Saito Y, Makino H: Clinical, autoimmune, and genetic characteristics of adult-onset diabetic patients with GAD autoantibodies in Japan (Ehime Study). Diabetes Care 25:995–1001, 2002.
28. Brophy S, Yderstraede K, Mauricio D, Hunter S, Hawa M, Pozzilli P, Schernthaner G, Schloot N, Buzzetti R, Davies H, Leslie D, Williams R; Action LADA Group. Time to insulin initiation cannot be used in defining latent autoimmune diabetes in adults (LADA). Diabetes Care; 31(3):439-41 2008.
29. Zimmet P, Turner R, Mc Carty D, Rowley M, Mackay I. Crucial points at diagnosis: type 2 diabetes or slow type 1 diabetes. Diabetes Care; 22:59-64, 1999.
30. Hagopian WA, Karlsen AE, Gottsäter A, Landin-Olsson M, Grubin CE, Sundkvist G, Petersen JS, Boel E, Dyrberg T, Lernmark A. Quantitative assay using recombinant human islet glutamic acid decarboxylase

(GAD65) shows that 64K autoantibody positivity at onset predicts diabetes type. J Clin Invest; 91:368–374, 1993.

31. Gottsäter A, Landin-Olsson M, Fernlund P, Lernmark A, Sundkvist G. Beta-cell function in relation to islet cell antibodies during the first 3 yr after clinical diagnosis of diabetes in type II diabetic patients. Diabetes Care; 16:902–910, 1993.
32. Borg H, Gottsäter A, Fernlund P, Sundkvist G: A 12-year prospective study of the relationship between islet antibodies and β-cell function at and after diagnosis in patients with adult-onset diabetes. Diabetes 51:1754–1762, 2002.
33. Naik RG, Palmer JP: Latent autoimmune diabetes in adults (LADA). Rev Endocr Metab Disord; 4:233–241, 2003.
34. Seissler J, de Sonnaville JJ, Morgenthaler NG, Steinbrenner H, Glawe D, Khoo-Morgenthaler UY, Lan MS, Notkins AL, Heine RJ, Scherbaum WA: Immunological heterogeneity in type I diabetes: presence of distinct autoantibody patterns in patients with acute onset and slowly progressive disease. Diabetologia 41:891– 897, 1998.
35. Buzzetti R, Di Pietro S, Giaccari A, Petrone A, Locatelli M, Suraci C, Capizzi M, Arpi ML, Bazzigaluppi E, Dotta F, Bosi E; Non Insulin Requiring Autoimmune Diabetes Study Group.. High Titer of Autoantibodies to GAD Identifies a Specific Phenotype of Adult- Onset Autoimmune Diabetes. Diabetes Care 30: 932-8, 2007.
36. Rosário PW, Reis JS, Fagundes TA, Calsolari MR, Amim R, Silva SC, Purisch S.. Latent Autoimmune Diabetes in Adults (LADA): Usefulness of Anti-GAD Antibody Titers and Benefit of Early Insulinization. Arq Bras Endocrinol Metabol. 51:52-58, 2007.
37. Maruyama T, Tanaka S, Shimada A, Funae O, Kasuga A, Kanatsuka A, Takei I, Yamada S, Harii N, Shimura H, Kobayashi T. Insulin

intervention in slowly progressive insulin-dependent (type 1) diabetes mellitus. J Clin Endocrinol Metab. 93:2115-2121, 2008.

38. Li X, Zhou ZG, Huang G, Yan X, Yang L, Chen XY, Wang JP. Optimal Cutoff Point of Glutamate Decarboxylase Antibody Titers in Differentiating Two Subtypes of Adult-Onset Latent Autoimmune Diabetes. Ann N Y Acad Sci.; 1037:122-6, 2004.
39. Matsumoto. M, Satou, S. Small doses of insulin may prevent the decrease of intrinsic insulin secretion in anti-GAD, ICA and IA-2 antibody-positive slowly progressive type 1 diabetes. [Japanese]. Journal of the Japan Diabetes Society 48:257-261, 2005.
40. Borg H, Gottsäter A, Landin-Olsson M, Fernlund P, Sundkvist G: High levels of antigen-specific islet antibodies predict future beta-cell failure in patients with onset of diabetes in adult age. J Clin Endocrinol Metab 86:3032–3038, 2001.
41. Palmer JP, Fleming GA, Greenbaum CJ, Herold KC, Jansa LD, Kolb H, Lachin JM, Polonsky KS, Pozzilli P, Skyler JS, Steffes MW..C-peptide Is the Appropriate Outcome Measure for Type 1 Diabetes Clinical Trials to Preserve {beta}-Cell Function: Report of an ADA Workshop. Diabetes 53:250-264, 2004.
42. Valdes A M, Thomson G, Erlich H A, and Noble J A . Association Between Type 1 Diabetes Age of Onset and HLA Among Sibling Pairs. Ana M. D i a b e t e s; 48:1658–1661, 1999.
43. Sabbah E, Savola K, Ebeling T, Kulmala P, Vähäsalo P, Ilonen J, Salmela PI, Knip M. Genetic, autoimmune, and clinical characteristics of childhood- and adult-onset type 1 diabetes. Diabetes Care.;23(9):1326-32; 2000.
44. Desai M, Zeggini E, Horton VA, Owen KR, Hattersley AT, Levy JC, Walker M, Gillespie KM, Bingley PJ, Hitman GA, Holman RR, McCarthy MI, Clark A. An association analysis of the HLA gene region

in latent autoimmune diabetes in adults. Diabetologia.;50(1):68-73; 2006.

45. Stenström G, Berger B, Borg H, Fernlund P, Dorman J S, Sundkvist G. HLA-DQ genotypes in classic type. 1 diabetes and in latent autoimmune diabetes of the adult. Am J Epidemiol; 156: 787–796, 2002.
46. Caputo M, Cerrone GE, Lopez AP, Gonzalez C, Mazza C, Cedola N, Puchulu FM, Targovnik HM, Frechtel GD. HLA-DQB1 genotyping in latent autoimmune diabetes of adults (LADA). Medicine (B Aires); 65: 235.240; 2005.
47. Cervin C, Lyssenko V, Bakhtadze E, Lindholm E, Nilsson P, Tuomi T, Cilio C M, and Groop L. Genetic Similarities Between Latent Autoimmune Diabetes in Adults, Type 1 Diabetes, and Type 2 Diabetes. Diabetes; 57:1433–1437, 2008.
48. Harris M, Zimmet P. Classification of diabetes mellitus and other categories of glucose intolerance. In: Alberti K, De Fronzo R, Keen H, Zimmet P, eds International Textbook of Diabetes Mellitus. John Wiley & Sons Ltd,: 3-18, 1992.
49. Björk E, Berne C, Kämpe O, Wibell L, Oskarsson P, Karlsson FA: Diazoxide treatment at onset preserves residual insulin secretion in adults with autoimmune diabetes. Diabetes 45:1427 –1430, 1996.
50. Lohmann T, Seissler J, Verlohren H-J, Schro¨ der S, Ro¨ tger J, Da¨hn K, Morgenthaler N, Scherbaum WA: Distinct genetic and immunological features in patients with onset of IDDM before and after age 40. Diabetes Care 20:524 –529, 1997.
51. Juneja R, Palmer JP: Type 1 1/2 diabetes: myth or reality? Autoimmunity 29:65– 83, 1999.
52. Carlsson A, Sundkvist G, Groop L, Tuomi T: Insulin and glucagon secretion in patients with slowly progressing autoimmune diabetes (LADA). J Clin Endocrinol Metab 85:76–80, 2000.

53. Schernthaner G, Hink S, Kopp HP, Muzyka B, Streit G, Kroiss A. Progress in the characterization of slowly progressive autoimmune diabetes in adult patients (LADA or type 1.5 diabetes).Exp Clin Endocrinol Diabetes.; 109 Suppl 2:S94-108, 2001.
54. Palmer JP, Hirsch IB: What's in a name: latent autoimmune diabetes of adults, type 1.5, adult-onset, and type 1 diabetes. Diabetes Care 26:536–538, 2003.
55. Behme MT, Dupre´ J, Harris SB, Hramiak IM, Mahon JL: Insulin resistance in latent autoimmune diabetes of adulthood. Ann N Y Acad Sci 1005:374–377, 2003.
56. Report of a WHO Consultation. Definition, Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus and its Complications. Part 1: Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. World Health Organization Department of Noncommunicable Disease Surveillance, Geneva 1999.
57. The Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus: Report of the Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. Diabetes Care; 23: supplement 1, 2008.
58. Verge CF, Gianani R, Kawasaki E, Yu L, Pietropaolo M, Jackson RA, et al. Prediction of type I diabetes in first-degree relatives using a combination of insulin, GAD, and ICA512bdc/IA-2 autoantibodies. diab;45(7):926-33, 1996.
59. Zimmet PZ, Tuomi T, MacKay IR, Rowley MJ, Knowles W, Cohen M, et al. Latent autoimmune diabetes mellitus in adults (LADA): the role of antibodies to glutamic acid decarboxylase in diagnosis and prediction of insulin dependency. Diabet Med;11:299–303, 1994.
60. Lohmann T, Nietzschmann U, Kiess W. "Lady-like": Is there a latent autoimmune diabetes in the young ? Diabetes Care ; 23: 1707-1708 , 2000.

61. Aycan Z, Berberoglu M, Adiyaman P, Ergür AT, Ensari A, Evliyaoglu O, Siklar Z, Ocal G. Latent autoimmune diabetes mellitus in children (LADC) with autoimmune thyroiditis and Celiac disease. J Pediatr Endocrinol Metab. 2004 Nov;17(11):1565-9.
62. Abelson P, Kennedy D: The obesity epidemic. Science 304: 1413, 2004.
63. Lohmann T, Kellner K, Verlohren HJ et al. Titre and combination of ICA and autoantibodies to glutamic decarboxylase discriminate two clinically distinct types of late autoimmune diabetes in adults (LADA). Diabetologia; 44: 1005–1010, 2001.
64. The Diabetes Control and Complications Trial Research Group. Effect of intensive therapy on residual beta-cell function in patients with type 1 diabetes in the diabetes control and complications trial. A randomized, controlled trial. Ann Intern Med 128:517–523, 1998.
65. Ridker PM. High-sensitivity C-reactive protein and cardiovascular risk: rationale for screening and primary prevention. Am J Cardiol; 92:17–22, 2003.
66. Eisenbarth GS, Rewers M, Diabetes Autoimmunity Study in Young . Prediction of autoantibody positivity and progression to type 1 diabetes: Diabetes Autoimmunity Study in the Young (DAISY). J Clin Endocrinol Metab 89:3896–3902, 2004.
67. Pipeleers D, Ling Z Pancreatic _ cells in insulin-dependent diabetes. Diabetes Metab Rev 8:209–227, 1992.
68. Keskinen P, Korhonen S, Kupila A, Veijola R, Erkkila S, Savolainen H, Arvilommi P, Simell T, Ilonen J, Knip M, Simell O. First-phase insulin response in young healthy children at genetic and immunological risk for type I diabetes. Diabetologia 45:1639–1648, 2002.
69. Kibirige M, Metcalf B, Renuka R, Wilkin TJ. Testing the accelerator hypothesis: the relationship between body mass and age at diagnosis of type 1 diabetes. Diabetes Care 26:2865–2870, 2003.

70. Bingley PJ, Bonifacio E, Gale EA. Can we really predict IDDM? Diabetes 42:213–220, 1993.
71. Gorus FK. Diabetes registries and early biological markers of insulindependent diabetes mellitus. Belgian Diabetes Registry. Diabetes Metab Rev 13:247–274, 1997.
72. Roep Bart O. Islet Autoreactive CD8 T-cells in Type 1 Diabetes Licensed to Kill? DIABETES, Vol. 57, 2008.
73. Signore A, Annovazzi A, Gradini R, Liddi R, Ruberti G. Fas and Fas ligand-mediated apoptosis and its role in autoimmune diabetes. Diabetes Metab Rev.; 14(3):197-206, 1998.
74. Herold KC, Hagopian W, Auger JA, Poumian-Ruiz E, Taylor L, Donaldson D, Gitelman SE, Harlan DM, Xu D, Zivin RA, Bluestone JA. Anti-CD3 monoclonal antibody in new-onset type 1 diabetes mellitus. N Engl J Med.;346(22):1692-8, 2002.
75. Jenny M. Phillips, Lorraine O'Reilly, Chris Bland,1 Alan K. Foulis, and Anne Cooke. Patients With Chronic Pancreatitis Have Islet Progenitor Cells in Their Ducts, but Reversal of Overt Diabetes in NOD Mice by Anti-CD3 Shows No Evidence for Islet Regeneration. DIABETES, Vol. 56, 2007.
76. Hu CY, Rodriguez-Pinto D, Du W, Ahuja A, Henegariu O, Wong FS, et al. Treatment with CD20-specific antibody prevents and reverses autoimmune diabetes in mice. J Clin Invest; 117(12):3857-67, 2007.
77. Bingley PJ, Bonifacio E, Williams AJ, Genovese S, Bottazzo GF, Gale EA. Prediction of IDDM in the general population: strategies based on combinations of autoantibody markers. Diabetes; 46:1701–1710, 1997.
78. Verge CF, Stenger D, Bonifacio E et al. Combined use of autoantibodies (IA-2 autoantibody, GAD autoantibody, insulin autoantibody, cytoplasmic islet cell antibodies) in type 1 diabetes: combinatorial islet autoantibody workshop. Diabetes; 47: 1857–1866, 1998.

79. Harrison LC. Risk assessment, prediction and prevention of type 1 diabetes. Pediatric Diabetes; 2:71–82, 2001.
80. Shimada A, Imazu Y, Morinaga S et al. T-cell insulitis found in anti-GAD65+diabetes with residual beta-cell function. A case report. Diabetes Care; 22:615–617, 1999.
81. Kobayashi T, Tanaka S, Okubo M, Nakana, Murase T, Lernmark A. Unique epitopes of glutamic acid decarboxylase autoantibodies in slowly progressive type 1 diabetes. J Clin Endocrinol Metab; 88:4678–4775, 2003.
82. Brooks-Worrell BM, Juneja R, Minokadeh A, Greenbaum CJ, Palmer JP. Cellular immune responses to human islet proteins in antibody-positive type 2 diabetic patients. Diabetes; 48:983–988, 1999.
83. Wild S, Roglic G, Green A, Sicree R, King H. Global prevalence of diabetes: estimates for the year 2000 and projections for 2030. Diabetes Care;27(5):1047-53, 2004.
84. Falorni A, Gambelunghe G, Forini F, Kassi G, Cosentino A, Candeloro P, Bolli GB, Brunetti P, Calcinaro F. Autoantibody recognition of COOH-terminal epitopes of GAD65 marks the risk for insulin requirement in adult-onset diabetes mellitus. J Clin Endocrinol Metab; 85:309–316, 2000.
85. Rattarasarn, C., M. Aguilar Diosdado & S. Soonthornpun. Glutamic acid decarboxylase antibodies in non-insulin-dependent diabetes patients with secondary sulfonylurea failure in Thailand. Diabetes Res. Clin. Pract.; 37: 193–197, 1997.
86. Barinas-Mitchell E, Pietropaolo S, Zhang YJ, Henderson T, Trucco M, Kuller LH, Pietropaolo M. Islet cell autoimmunity in a triethnic adult population of the Third National Health and Nutrition Examination Survey. Diabetes.;53(5):1293-302, 2004 May.

87. Genovese S, Bazzigaluppi E, Goncalves D, Ciucci A, Cavallo M G, Purrello F , Anello M , Rotella C M , et al. Clinical phenotype and b-cell autoimmunity in Italian patients with adult-onset diabetes. European Journal of Endocrinology; 154 441–447, 2006.

88. Maclaren NK, Huang S-W. Antibody to cultured human insulinoma cells in insulin-dependent diabetes. Lancet 1:997–999, 1975.

89. Lernmark A, Freedman ZR, Hofmann C, Rubenstein AH, Steiner DF, Jackson RL,Winter RJ, Traisman HS. Islet-cell-surface antibodies in juvenile diabetes mellitus. N Engl J Med 299:375–380, 1978.

90. Palmer JP, Asplin CM, Clemons P, Lyen K, Tatpati O, Raghu PK, Paquette TL. Insulin antibodies in insulin-dependent diabetics before insulin treatment. Science; 222:133–139, 1983.

91. Gerling I, Baekkeskov S, Lernmark A. Islet cell and 64K autoantibodies are associated with plasma IgG in newly diagnosed insulin-dependent diabetic children. J Immunol; 137:3782–3785, 1986.

92. Maron R, Elias D, DeJongh BM, Bruining GF, VanRood JJ, Shechter Y, Cohen IR. Autoantibodies to the insulin receptor in juvenile onset insulin-dependent diabetes. Nature; 303:81–88,1983.

93. Castano L, Russo E, Zhou L, Lipes MA, Eisenbarth GS. Identification and cloning of a granule autoantigen (carboxypeptidase-H) associated with type I diabetes. J Clin Endocrinol Metab; 73:1197–1201, 1991.

94. Jones DB, Hunter NR, Duff GW. Heatshock protein 65 as a beta cell antigen of insulindependent diabetes. Lancet; 336:583–585, 1990.

95. Rorsman F, Husebye ES,Winqvist O, Bjork E, Karlsson FA, Kampe O. Aromatic-L-aminoacid decarboxylase, a pyridoxal phosphatedependent enzyme, is a beta-cell autoantigen. Proc Natl Acad Sci; 92:8626–8629, 1995.

96. Kim YJ, Zhou Z, Hurtado J,Wood DL, Choi AS, Pescovitz MD,Warfel KA, Vandagriff J, Davis JK, Kwon BS. IDDM patients' sera recognize a

novel 30-kD pancreatic autoantigen related to chymotrypsinogen. Immunol Invest; 22:219–227, 1993.

97. Chang YH, Hwang J, Shang HF, Tsai ST. Characterization of human DNA topoisomerase II as an autoantigen recognized by patients with IDDM. Diabetes 45:408–414, 1996.

98. Aanstoot HJ, Kang SM, Kim J, Lindsay LA, Roll U, Knip M, Atkinson M, Mose Larsen P, Fey S, Ludvigsson J, Landin M, Bruining J, Maclaren N, Akerblom HK, Baekkeskov S. Identificationand characterization of glima 38, a glycosylated islet cell membrane antigen, which together with GAD65 and IA2 marks the early phases of autoimmune response in type 1 diabetes. J Clin Invest; 97:2772–2783, 1996.

99. Johnson JH, Crider BP, McCorkle K, Alford M, Unger RH. Inhibition of glucose transport into rat islet cells by immunoglobulins from patients with new-onset insulin-dependent diabetes mellitus. N Engl J Med; 332:653–659, 1990.

100. Cabrera-Rode E, Diaz-Horta O, Fernandez LE, Carr A, Marquina G, Valiente O, Gonzalez-Suarez RM, Uriarte A. Glycolipids as the majorautoantigens of cytoplasmatic islet cell antibodies. Autoimmunit;y 20:145–151, 1995.

101. Dotta F, Falorni A, Tiberti C, Dionisi S, Anastasi E, Torresi P, Lernmark A, Di Mario U. Autoantibodies to the GM2-1 islet ganglioside and to GAD-65 at type 1 diabetes onset. J Autoimmun; 10:585–588, 1997.

102. Rabin DU, Pleasic SM, Shapiro JA,Yoo-Warren H, Oles J, Hicks JM, Goldstein DE, Rae PM. Islet cell antigen 512 is a diabetes-specific islet autoantigen related to protein tyrosine phosphatases. J Immunol; 152:3183–3188, 1994.

103. Lan MS,Wasserfall C, Maclaren NK, Notkins AL. IA-2, a transmembrane protein of the protein tyrosine phosphatase family, is a major autoantigen

in insulin-dependent diabetes mellitus. Proc Natl Acad Sci; 93:6367–6370, 1996.

104. Christie MR, Tun RY, Lo SS, Cassidy D, Brown TJ, Hollands J, Shattock M, Bottazzo GF, Leslie RD. Antibodies to GAD and tryptic fragments of islet 64K antigen as distinct markers for development of IDDM: studies with identical twins. Diabetes; 41:782–787, 1992.

105. Pietropaolo M, Castaño L, Babu S, Buelow R, Kuo Y-LS, Martin S, Martin A, Powers AC, Prochazka M, Naggert J, Leiter EH, Eisenbarth GS: Islet cell autoantigen 69 kD (ICA69). molecular cloning and characterization of a novel diabetes-associated autoantigen. J Clin Invest; 92:359–371, 1993.

106. Pak CY, Cha CY, Rajotte RV, McArthur RG, Yoon JW. Human pancreatic islet cell specific 38 kilodalton autoantigen identified by cytomegalovirus-induced monoclonal islet cell autoantibody. Diabetologia; 33:569–572, 1990.

107. Bohmer K, Keilacker H, Kuglin B, Hubinger A, Bertrams J, Gries FA, Kolb H. Proinsulin autoantibodies are more closely associated with type 1 (insulin-dependent) diabetes mellitus than insulin autoantibodies. Diabetologia; 34:830–834, 1991.

108. Karounos DG, Thomas JW. Recognition of common islet antigen by autoantibodies from NOD mice and humans with IDDM. Diabetes; 39:1085–1090, 1990.

109. Kasimiotis H, Myers MA, Argentaro A, Mertin S, Fida S, Ferraro T, Olsson J, Rowley MJ, Harley VR. Sex-determining region Y-related protein SOX13 is a diabetes autoantigen expressed in pancreatic islets. Diabetes ; 49:555–561, 2000.

110. Taniguchi T, Okazaki K, Okamoto M, Seko S, Uchida K, Seino Y. Presence of autoantibodies to carbonic anhidrase II and lactoferrin in type

1 diabetes. proposal of the concept of autoimmune exocrinopathy and endocrinopathy of the pancreas. Diabetes Care; 24:1695–1696, 2001.

111. Wenzlau JM, Juhl K, Yu L, Moua O, Sarkar SA, Gottlieb P, et al. The cation efflux transporter ZnT8 (Slc30A8) is a major autoantigen in human type 1 diabetes. Proc Natl Acad Sci; 104(43):17040-5, 2007.

112. Fierabracci A, Biro PA, Yiangou Y, Mennuni C, Luzzago A, Ludvigsson J, et al. Osteopontin is an autoantigen of the somatostatin cells in human islets: identification by screening random peptide libraries with sera of patients with insulin-dependent diabetes mellitus. Vaccine ; 18(3-4):342-54, 1999.

113. Ola TO, Biro PA, Hawa MI, Ludvigsson J, Locatelli M, Puglisi MA, et al. Importin beta: A novel autoantigen in human autoimmunity identified by screening random peptide libraries on phage. J Autoimmun; 26(3):197-207, 2006.

114. Winer S, Tsui H, Lau A, Song A, Li X, Cheung RK, et al. Autoimmune islet destruction in spontaneous type 1 diabetes is not beta-cell exclusive. Nat Med;9(2):198-205, 2003.

115. Rinta-Valkama J, Aaltonen P, Lassila M, Palmen T, Tossavainen P, Knip M, et al. Densin and filtrin in the pancreas and in the kidney, targets for humoral autoimmunity in patients with type 1 diabetes. Diabetes Metab Res Rev.; 23(2):119-26, 2007.

116. Mallone R, Perin PC. Anti-CD38 autoantibodies in type? diabetes. Diabetes Metab Res Rev.;22(4):284-94, 2006.

117. Schatz D,Winter W. Recent advances in the immunopathogenesis of insulin-dependent diabetes mellitus. Curr Opin Pediatr ;7:459–465, 1995.

118. Schranz DB, Lernmark A˚ . Immunology in diabetes: an update. Diabetes Metab Rev; 14:3–29. 3, 1998.

119. Seissler J, Scherbaum WA. Are we ready to predict and prevent endocrine/organ-specific autoimmune diseases? Springer Semin Immunopathol; 24:273–95, 2002.
120. Seissler J, Scherbaum WA. Autoimmune diagnostics in diabetes mellitus. Clin Chem Lab Med;44(2):133-7, 2006.
121. Juneja R, Hirsch IB, Naik RG, Brooks-Worrell BM, Greenbaum CJ, Palmer JP: Islet cell antibodies and glutamic acid decarboxylase antibodies, but not the clinical phenotype, help to identify type 1 (1/2) diabetes in patients presenting with type 2 diabetes. Metab Clin Exp 50:1008 –1013, 2001.
122. Kucera P, Novakova D, Behanova M, Novak J, Tlaskalova- Hogenova H, Andel M. Gliadin, endomysial and thyroid antibodies in patients with latent autoimmune diabetes of adults (LADA). Clin Exp Immunol; 133:139–143, 2003.
123. Gambelunghe G, Forini F, Laureti S et al. Increased risk for endocrine autoimmunity in Italian type 2 diabetic patients with GAD65 autoantibodies. Clin Endocrinol (Oxf); 52:565– 573, 2000.
124. Weetman AP. Autoimmune thyroid disease: propagation and progression. Eur J Endocrinol; 148:1–9, 2003.
125. Smith CM, Clarke CF, Porteous LE, Elsori H, Cameron DJ. Prevalence of coeliac disease and longitudinal follow-up of antigliadin antibody status in children and adolescents with type 1 diabetes mellitus. Pediatr Diabetes; 1:199–203, 2000.
126. Wagner1994 Wagner R, Genovese S, Bosi E et al. Slow metabolic deterioration towards diabetes in islet cell antibody positive patients with autoimmune polyendocrine disease. Diabetologia; 37:365–37, 1994.
127. Erdo SL, Wolff JR. Gamma-aminobutyric acid outside the mammalian brain. J Neurochem;54:363-72, 1990.

128. Kanaani J, Diacovo MJ, El Husseini A, Bredt DS, Baekkeskov S. Palmitoylation controls trafficking of GAD65 from Golgi membranes to axon-specific endosomes and a Rab5a-dependent pathway to presynaptic clusters. J Cell Sci; 117(Pt 10):2001-13, 2004.
129. Vives Pi M, Somoza N, Vargas F, Armengol P, Sarri Y,Wu JY, Pujol-Borrell R. Expression of glutamic acid decarboxylase (GAD) in the alpha, beta and delta cells of normal and diabetic pancreas: implications for the pathogenesis of type I diabetes. Clin Exp Immunol; 92:391–396, 1993.
130. Bu DF, Tobin AJ. The exon-intron organization of the genes (GAD1 and GAD2) encoding two human glutamate decarboxylases (GAD67 and GAD65) suggests that they derive from a common ancestral GAD. Genomics;;21(1):222-8, 1994.
131. Verge CF, Howard NJ, Rowley MJ, MacKay IR, Zimmet P, Egan M, et al. Anti-glutamate decarboxylase and other antibodies at the onset of childhood IDDM: a populationbased study. Diabetologia;37:1113–20, 1994.
132. Hampe CS, Kockum I, Landin-Olsson M, Torn C, O¨ rtqvist E, Persson B, Rolandsson O, Palmer JP, Lernmark Å: GAD65 antibody epitope patterns of type 1.5 diabetes patients are consistent with slow onset autoimmune diabetes. Diabetes Care; 25:1481–1482, 2002.
133. Padoa CJ, Banga JP, Madec A-M, Ziegler M, Schlosser M, O¨ rtqvist E, Kockum I, Palmer JP, Rolandsson O, Binder KA, Foote J, Luo D, Hampe CS: Recombinant Fab of human monoclonal antibodies specific to the middle epitope of GAD65 inhibit type 1 diabetes-specific GAD65Abs. Diabetes; 52:2689 –2695, 2003.
134. Hillman M, To¨ rn C, Thorgeirsson H, Landin-Olsson M: IgG4-subclass of glutamic acid decarboxylase antibody is more frequent in latent autoimmune diabetes in adults than in type 1 diabetes. Diabetologia; 47:1984–1989, 2004.

135. Bonifacio E, Genovese S, Braghi S, Bazzigaluppi E, Lampasona V, Bingley PJ, Rogge L, Pastore MR, Bognetti E, Bottazzo GF, Gale EAM, Bosi E. Islet autoantibody markers in IDDM: risk assessment strategies yielding high sensitivity. Diabetologia; 38:816–822, 1995.

136. Morgenthaler NG, Seissler J, Achenbach P, Glawe D, Payton M, Meinck HM, et al. Antibodies to the tyrosine phosphatase-like protein IA-2 are highly associated with IDDM, but not with autoimmune endocrine diseases or stiff man syndrome. Autoimmunity;25:202–12, 1996.

137. LU J, Li Q, Xie H, Chen Z-J, Borovitskaya AE, Maclaren NK, et al. Identification of a second transmembrane protein tyrosine phosphatase, IA-2β, as an autoantigen in insulin-dependent diabetes mellitus: precursor of the 37-kDa tryptic fragment. Proc Natl Acad Sci;93:2307-11, 1996.

138. Rabin DU, Pleasic SM, Palmer-Crocker R, Shapiro JA. Cloning and expression of IDDM-specific human autoantigens. diab;41(2):183-6, 1992.

139. Savola K, Bonifacio E, Sabbah E, Kulmala P, Vahasalo P, Karjalainen J, Tuomilehto-Wolf E, Merilainen J, Akerblom HK, Knip M: IA-2 antibodies: a sensitive marker of IDDM with clinical onset in childhood and adolescence: Childhood Diabetes in Finland Study Group. Diabetologia; 41:424–429, 1998.

140. Feeney SJ, Myers MA, Mackay IR, Zimmet PZ, Howard N, Verge CF, Rowley MJ. Evaluation of ICA512As in combination with other islet cell autoantibodies at the onset of IDDM. Diabetes Care; 20:1403–1407, 1997.

141. Achenbach P, Warncke K, Reiter J, Naserke HE, Williams AJ, Binley PJ, Bonifacio E & Ziegler AG. Stratification of type 1 diabetes risk on the basis of islet autoantibody characteristics. Diabetes; 53:1175–1176, 2004.

142 . Vardi P, Ziegler AG, Mathews JH, Dib S, Keller RJ, Ricker AT, et al. Concentration of insulin autoantibodies at onset of type I diabetes. Inverse log-linear correlation with age. Diabetes Care;11:736–9, 1988.

143 . Di Mario U, Perfetti R, Anastasi E, Contreas G, Crisa L, Tiberti C, Amendolea MA, Masala C. Autoantibodies to insulin do appear in non-diabetic patients with autoimmune disorders: comparison with anti-immunoglobulin antibodies and other autoimmune phenomena. Acta Endocrinol (Copenh); 122:303–308, 1990.

144 . Todd JA, Walker NM, Cooper JD, Smyth DJ, Downes K, Plagnol V, et al. Robust associations of four new chromosome regions from genome-wide analyses of type 1 diabetes. Nat Genet. 2007 Jul;39(7):857-64. 2007.

145 . Dorman J S, Bunker C.H. HLA-DQ Locus of the Human Leukocyte Antigen Complex and Type 1 Diabetes Mellitus: A HuGE Review. Epidemiol Rev Vol.; 22, No. 2, 2000.

146 . Germain RN. Antigen processing and presentation. In: Paul WE, ed. Fundamental immunology. 3rd ed. New York, NY: Raven Press, 629-76, 1993.

147 . Todd JA, Bell JI, McDevitt HO. HLA-DQ β gene contributes to susceptibility and resistance to insulin-dependent diabetes mellitus. Nature;329:599-604, 1987.

148 . Erlich H, Valdes AM, Noble J, Carlson JA, Varney M, Concannon P, Mychaleckyj JC, Todd JA, Bonella P, Fear AL, Lavant E, Louey A, Moonsamy P; Type 1 Diabetes Genetics Consortium. HLA DR-DQ haplotypes and genotypes and type 1 diabetes risk: analysis of the type 1 diabetes genetics consortium families. Diabetes.;57(4):1084-92; 2008.

149 . Kockum I, Wassmuth R, Holmberg E, Michelsen B, and Lernmark A. HLA-DQ primarily confers protection and HLA-DR susceptibility in type I (insulin- dependent) diabetes studied in population-based affected families and controls. Am J Hum Genet; 53(1): 150–167, 1993.

150 . Noble J A, Valdes A M, Cook M, Klitz W, Thomson G, and Erlich H A. The role of HLA class II genes in insulin-dependent diabetes mellitus:

molecular analysis of 180 Caucasian, multiplex families. Am. J. Hum. Genet.; 59:1134-1148, 1996.

151 . Caillat-Zucman S, Garchon HJ, Timsit J, Assan R, Boitard C, Djilali-Saiah I, Bougnères P, Bach JF. Age-dependent HLA genetic heterogeneity of type 1 insulin-dependent diabetes mellitus. J Clin Invest.;90(6):2242-50; 1992.

152 . Santos J L, Pérez-Bravo F, Carrasco E, Calvillán M, and Albala C. Association between HLA-DQB1 Alleles and Type 1 Diabetes in a Case-Parents Study Conducted in Santiago, Chile. Am J Epidemiol; 153:794–8, 2001.

153 . Cinek O, Kolouskova´ S, Snajderova´ M, Sumnı´k Z, Sedla´kova P, Drevınek P, Vavrinec J, Ronningen KS. HLA class II genetic association of type 1 diabetes mellitus in Czech children.Pediatric Diabetes.; 2: 98–102, 2001.

154 . Mimbacas A, Pérez-Bravo F, Hidalgo PC, Javiel G, Pisciottano C, Grignola R, Jorge AM, Gallino JP, Gasagoite J, Cardoso H. Association between diabetes type 1 and DQB1 alleles in a case-control study conducted in Montevideo, Uruguay. Genet Mol Res. 2(1):29-35; 2003.

155 . Shawkatova I, Michalkova D, Barak L, Fazekasova H, Kuba D, Buc M. HLA class II allele frequencies in type 1A diabetes mellitus Slovak patients. Bratisl Lek Listy.;107(3):76-9, 2006.

156 . Ikegami H, Noso S, Babaya N, Hiromine Y, Kawabata Y. Genetic Basis of Type 1 Diabetes: Similarities and Differences between East and West. Rev Diabet Stud.;5(2):64-72; 2008.

157 . Mehers K L, and Gillespie K M. The genetic basis for type 1 diabetes. British Medical Bulletin; 88: 115–129; 2008.

158 . Stayoussef M, Benmansour J, Al-Irhayim AQ, Said HB, Rayana CB, Mahjoub T, Almawi WY. Autoimmune type 1 diabetes genetic

susceptibility encoded by human leukocyte antigen DRB1 and DQB1 genes in Tunisia. Clin Vaccine Immunol.; 16(8):1146-50.; 2009.

159 ZHANG Xiao-mei, WANG Hong-yuan, LUO Ying-ying and JI Li-nong. HLA-DQ, DR allele polymorphism of type 1 diabetes in the Chinese population: a meta-analysis. Chin Med J.;122(8):980-986; 2009.

160 . Dorman, J. Molecular epidemiology of insulin-dependent diabetes mellitus: WHO DiaMond Project. WHO DiaMond Molecular Epidemiology Sub-Project Group. Gac. Med. Mex.; 133: 151-154, 1997.

161 . Caillat-Zucman S, Djilali-Saiah I, Timsit J, et al. Insulin dependent diabetes mellitus (IDDM): 12th International Histocompatibility Workshop study.Charron D, ed. Genetic diversity of HLA: functional and medical implications. Paris: EDK;:389-398, 1997.

162 . Rewers M, Bugawan T L, Norris J M, Blair A, Beaty B, Hoffman M, McDuffie Jr R S, Hamman R F, Klingensmith G, Eisenbarth G S, and Erlich H A. Newborn screening for HLA markers associated with IDDM: diabetes autoimmunity study in the young (DAISY). Diabetologia; 39: 807-812, 1996.

163 . Kukko M, Virtanen S M, Toivonen A, Simell S, Korhonen S, Ilonen J, Simel O, Knip M . Geographical Variation in Risk HLADQB1 Genotypes for Type 1 Diabetes and Signs of β-Cell Autoimmunity in a High-Incidence Country. Diabetes Care; 27:676–681, 2004.

164 . Thomson G, Valdes AM, Noble JA, Kockum I, Grote MN, Najman J, Erlich HA, Cucca F, Pugliese A, Steenkiste A, et al. Relative predispositional effects of HLA class II DRB1-DQB1 haplotypes and genotypes on type 1 diabetes: a meta-analysis. Tissue Antigens.; 70(2):110-127, 2007.

165 . Ikegami H, Kawabata Y, Noso S, Fujisawa T, Ogihara T. Genetics of type 1 diabetes in Asian and Caucasian populations. Diab Res Clin Prac; 77:116-121, 2007.

166 . Stayoussef M, Benmansour J, Al-Jenaidi FA, Nemr R, Ali ME, Mahjoub T, Almawi WY. Influence of common and specific HLA-DRB1/DQB1 haplotypes on genetic susceptibilities of three distinct Arab populations to type 1 diabetes. Clin Vaccine Immunol. ;16(1):136-8; 2008.

167 . Pugliese A, Kawasaki E, Zeller M, Yu L, Babu S, Solimena M, Moraes CT, Pietropaolo M, Friday RP, Trucco M, Ricordi C, Allen M, Noble JA, Erlich HA, Eisenbarth GS. Sequence analysis of the diabetes-protective human leukocyte antigen-DQB1*0602 allele in unaffected, islet cell antibody-positive first degree relatives and in rare patients with type 1 diabetes. J Clin Endocrinol Metab.;84(5):1722-8, 1999.

168 . Ikegami H, Kawaguchi Y, Yamato E, Kuwata S, Tokunaqa K, Noma Y, et al. Analysis by the polymerase chain reaction of histocompatibility leucocyte antigen-DR9-linked susceptibility to insulin-dependent diabetes mellitus. J Clin Endocrinol Metab; 75: 1381-1385, 1992.

169 . Wen L, Wong FS, Tang J, Chen NY, Altieri M, David C, Flavell R, Sherwin R. In vivo evidence for the contribution of human histocompatibility leukocyte antigen (HLA)-DQ molecules to the development of diabetes. J Exp Med.;191(1):97-104, 2000.

170 . Sanjeevi CB, Zeidler A, Shaw S, Rotter J, Nepom GT, Costin G, Raffel L, Eastman S, Kockum I, Wassmuth R, et al. Analysis of HLA-DQA1 and -DQB1 genes in Mexican Americans with insulin-dependent diabetes mellitus. Tissue Antigens.;42(2):72-7, 1993.

171 . Greenbaum C J, Schatz D A, Cuthbertson D. et al. Islet cell antibody-positive relatives with human leukocyte antigen DQA1*0102, DQB1*0602: identification by the Diabetes Prevention Trial-type 1. J Clin Endocrinol Metab.; 85: 1255–1260, 2000.

172 . Zhou L, Lin B, Xie Y, Liu Z, Yan W, Xu A. "Polymorphism of human leukocyte antigen-DRB1, -DQB1, and -DPB1 genes of Shandong Han population in China.". Tissue Antigens; 66 (1): 37–43, 2005.

173 . Hawa MI, Thivolet C, Mauricio D, Alemanno I, Cipponeri E, Collier D, Hunter S, Buzzetti R, de Leave A, Pozzilli P, Leslie RD; Action LADA Group. Metabolic syndrome and autoimmune diabetes: action LADA 3. Diabetes Care 32:160-164, 2009.

174 . Törn, C., M. Landin-Olsson, Å. Lernmark, et al. Combinations of beta cell specific autoantibodies at diagnosis of diabetes in young adults reflects different courses of beta cell damage. Autoimmunity; 33: 115–120, 2001.

175 . Pozzilli P. Peptide therapy and prevention of beta cell deterioration in LADA. 5th IDS Summary of Satellite Symposium and Plenetary Lecture. 2001. www.ki.se/org/5thIDS/LADA-Symposium.pdf.

176 . Raz I, Elias D, Avron A, Tamir M, Metzger M, Cohen IR: Beta-cell function in new-onset type 1 diabetes and immunomodulation with a heat-shock protein peptide (DiaPep277): a randomised, double-blind, phase II trial. Lancet358 :1749 –1753,2001.

177 . Lernmark A, Agardh CD. Immunomodulation with human recombinant autoantigens. Trends Immunol. ;26(11):608-12, 2005.

178 . National Cholesterol Educarion Program Expert Panel. Third report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (ATP III). NIH Publication. Bethesda: National Heart, Lung, and Blood Institute; 2001.

179 . Hans Reinauer, Philip D. Home, Ariyur S. Kanagasabapathy, Claus-Chr. Heuck. World Health Organization. Laboratory Diagnosis and Monitoring of Diabetes Mellitus. 2002.

180 . Fourlanos S, Perry C, Stein MS, Stankovich J, Harrison LC, Colman PG: A clinical screening tool identifies autoimmune diabetes in adults. Diabetes Care 29:970– 975, 2006.

181 . Alvarsson M, Sundkvist G, Lager I, Henricsson M, Berntorp K, Fernqvist- Forbes E, Steen L, Westermark G, Westermark P, Orn T, Grill

V: Beneficial effects of insulin versus sulphonylurea on insulin secretion and metabolic control in recently diagnosed type 2 diabetic patients. Diabetes Care 26:2231–2237, 2003.

182 . Alvarsson M, Sundkvist G, Lager I, Henricsson M, Berntorp K, Fernqvist-Forbes E, Steen L, O¨ rn T, Grill V: Effects of insulin vs. glibenclamide in recently diagnosed type 2 diabetic patients (Abstract). Diabetologia 47 :A56, 2004.

ملحق الاختصارات المعتمدة في البحث

LADA	السكري المناعي الذاتي الخافِي عند البالغين
SPIDDM	السكري بطيء الترقي المعتمد على الأنسولين
LADY-like	السكري المناعي الذاتي الخافي عند الفتيان
LADC	السكري المناعي الذاتي الخافي عند الأطفال
أضداد ICA	أضداد الخلية الجزيرية الذاتية
أضداد GAD	أضداد إنزيم نازعة كربوكسيل حمض الغلوتاميك
أضداد IA2	أضداد بروتين التيروزين فسفاتاز
أضداد IA	أضداد الأنسولين
HLA	مستضد التوافق النسيجي البشري
BMI	منسب كتلة الجسم
NOD	فئران التجربة المعدلة وراثياً
DIAMOND	مشروع منظمة الصحة العالمية للسكري
TZDs	محسس الأنسولين Thiazolidinediones
FPG	الغلوكوز البلازمي الصيامي
2-h PG	سكر الدم بعد ساعتين من الطعام
OGTT	اختبار تحمل الغلوكوز الفموي
HbA1c	الهيموغلوبينِ الغلوكوزي
NGSP	برنامج التثقيف الوطني للكولسترول
DCCT	المجموعة البحثية لضبط السكر ومضاعفاته
HRP	أنزيم بيروكسيداز نبات المِلْعَقِيَّة
CTS	برنامج الطعوم التعاونية الألماني
Taq DNA	أنزيم بُوليميراز Taq الـــ DNA
A_{260}	امتصاص قياس الطيف الضوئي على الموجة ٢٦٠ نانومتر
OR	معدل الأرجحية
CI	مجال ثقة
ns	غير معتد (non significant)

Faculty of Medicine
Tishreen University
Latakia
Syria Arab Republic



The Prevalence, Autoimmune and Genetic Markers of Latent Autoimmune Diabetes of Adults in the Coastal Area /Syria

A Thesis Submitted in Order to Obtain a PhD Degree in Medical Biochemistry in Cooperation with the National Commission for Biotechnology Damascus, Syria

Dr. Aiman Ahmad Al-Farwi
(MD, Ma Lab-Med, MSc., Spec. MCB)

Under The Supervision Of

Dr. Mohammad Imad Khayat
Department of Laboratory Medicine
Faculty of Medicine
Tishreen University

And participation of

Prof. Munif Al-Meri
Department of Internal Medicine
Faculty of Medicine
Tishreen University

Dr. Ismail Arshoukia
The National Commission For Biotechnology
Ministry of Higher Education
Damascus, Syria